

肺の異型腺腫様過形成と腺癌の関係に関する計量組織学的・細胞化学的研究

著者	森 益子
学位授与機関	Tohoku University
URL	http://hdl.handle.net/10097/54646

博 士 論 文

肺の異型腺腫様過形成と腺癌の關係に関する計量組織学的・細胞化学的研究

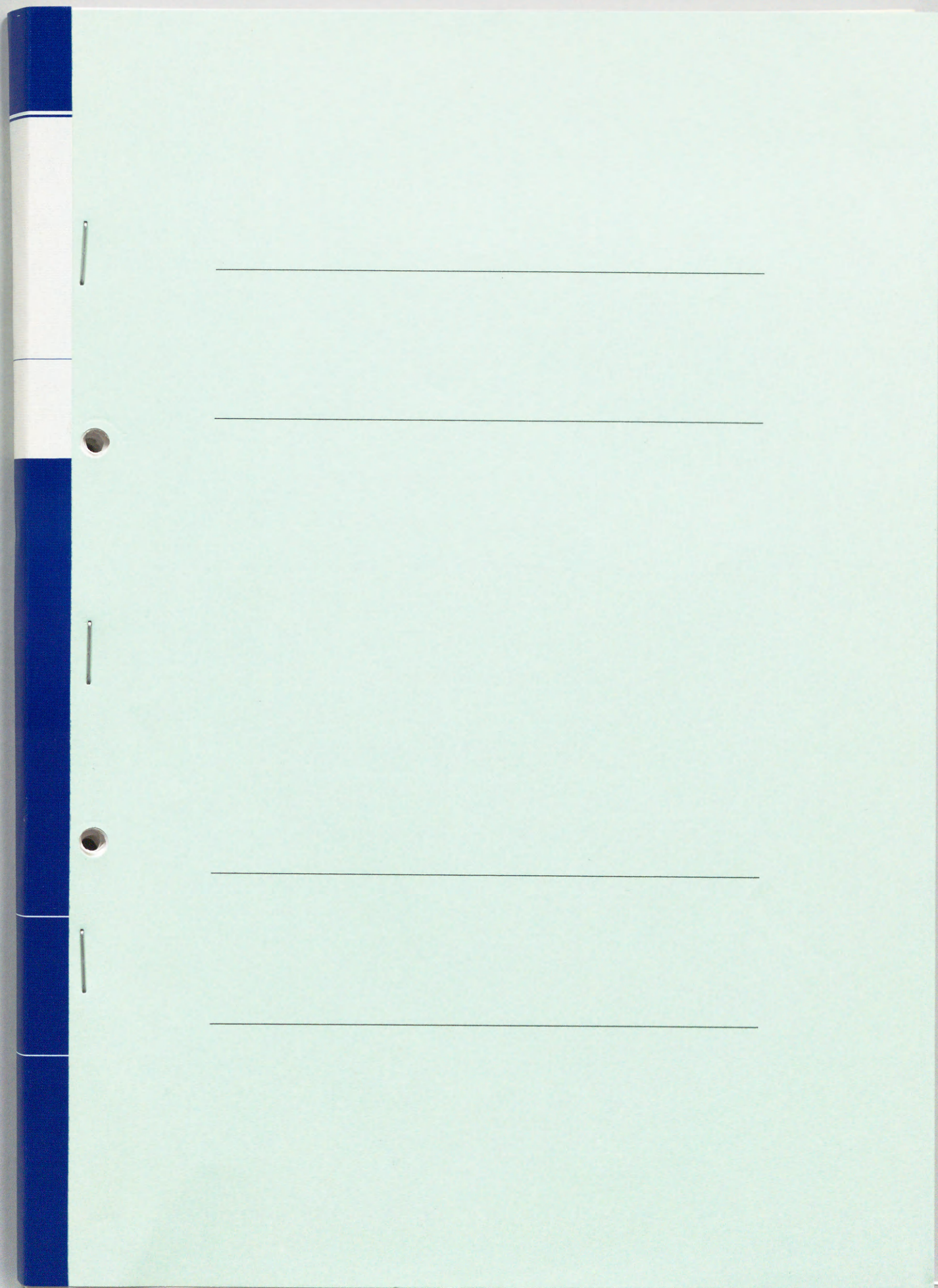
東北大学大学院医学研究科内科学系専攻

東北大学加齢医学研究所

腫瘍制御部門

呼吸器腫瘍研究分野

森 益子



博 士 論 文

表 題

肺の異型腺腫様過形成と腺癌の関係に関する計量組織学的・細胞化学的研究

著 者

東北大学大学院医学研究科内科学系専攻

東北大学加齢医学研究所

腫瘍制御部門

呼吸器腫瘍研究分野

森 益子

1. 緒 言

肺腺癌の発生過程には不明な点が多い。最近ある種の腺癌で、切除肺の非癌部にしばしば細胞異型を伴う増殖性病変が存在することが指摘され、腺癌の発生に関連する病変として注目されている。これは異型腺腫様過形成 (Atypical adenomatous hyperplasia, 以下 AAH)¹⁻¹⁴⁾ と呼ばれ、発癌の多段階的発生¹⁵⁾ の一段階である可能性を有している。しかし AAH の明確な定義や生物学的意味については依然として明らかでない。本研究では、最初に形態面から AAH の定義を明確化し、腺癌との関連を客観的に把握することを目的に、肺の手術材料から腺癌・AAH と診断された病変を用いて細胞異型度を数量化することから着手した。そしてデータを大型計算機による多変量解析 (クラスター分析)^{16, 17)} にかけて異型病変の最適分類を試みた。結果を先にとすると、AAH はこの面から定義可能であり、癌に近い腫瘍性病変であることが明らかになっ

た。

そこで更にAAHの細胞分化の方向と生物学的な位置づけを検討するため、上記モルフォメトリーに用いた例に、非腫瘍性 control として腺腫様過形成 (Adenomatous hyperplasia, 以下 AH)^{3, 4, 6)}・正常クララ細胞¹⁸⁻²⁰⁾・II型肺胞上皮細胞²¹⁾を加え、II型細胞への分化指標としてサーファクタント・アポ蛋白 A (以下 SPA)²²⁻³²⁾、クララ細胞への分化指標として urine protein 1 (以下 UP1)^{33, 34)}、チトクローム P-450 (IA1, II B1, II E1)³⁵⁻⁴⁰⁾、また未熟性の指標として癌胎児性抗原 (以下 CEA)^{26, 41, 42)}を用い、各々に対する免疫組織化学的検討を行った。また、電顕的にこれらの病変を超微形態像の上で比較検討した。なおこれらの研究成果については既に数編の論文を刊行しており^{12, 13, 43)}、現在も準備中である。

2. 研究対象と方法

1) 検索材料

複数の施設における肺腺癌303例、肺線維症（一部肺癌合併）18例の手術材料（開胸生検も含む）を用いた。後者はAAHの検索に用いたものである。材料はすべて10%ホルマリン固定を行ったものから癌巣・非癌部を含む様に多数の標本を切り出し、パラフィン包埋後厚さ $3\mu\text{m}$ の連続組織切片を10枚程度作成し、その一枚にヘマトキシリン・エオシン染色を行った。

これらを組織学的に検索し、クララ細胞型腺癌と考えられる35病変・II型肺胞上皮型腺癌と考えられる22病変・AAHと考えられる40病変、さらに癌病巣周囲や炎症部位などに見られたAHと考えられる17病変を抽出した（図1）。なお、AAHの大部分は腺癌の周囲に、それに連続して分布していた。また正常なクララ細胞・II型肺胞上皮細胞としては、モルフォメトリーに用いた標本の正常肺部分から各30領域、36領域を抽出した。

病変のカテゴリー化は下里ら^{1, 44-49)}に従った。すなわち、図1aの様に円柱状細胞からなる腺癌で、自由縁が舌状に腔内に突出し、木釘(hobnail) 状の形態を示すものをクララ細胞型、図1bの様に自由縁がドーム状の立方状細胞で、球型の核と微細空胞状の胞体を有する腺癌をII型肺胞上皮型腺癌、また図1c, dの様に、癌と比べてやや小型で濃染した核クロマチンを有する異型細胞が、多少とも肥厚した肺胞表面に増殖する病変をAAHとした。AAHの異型度は腺癌より軽いとされているが程度は様々である(図1c, dを比較)。

2) 細胞異型度のパラメータ化と計量

上記計 180 領域のうち、control 以外の 97 病変について、形態計量と以下に述べるクラスター分析により最適分類を見出すため、細胞異型度を図 2に示した 12 種のパラメータで数量化した。このうち核の基底配置性(極性) Pnは、細胞の基底膜から核の中心ま

での距離 a と細胞の丈の高さ b との比 (a/b) により表した。核形状係数 Q_n は、形の不規則性を表す変量で、断面積 S_n と周長 L_n から $Q_n = 4 \pi S_n / L_n^2$ により定義され、正円では 1、形が円から隔たるほど 0 に近い値をとり、核異型を反映する。また、クララ細胞型の特徴的な細胞輪郭を表現するため、基底膜の長さ L_b に対する細胞自由縁の長さ L_s の比 (L_s/L_b) により細胞自由縁の褶曲度 C_p を定義した。

計測には、主に増殖の先端部で形態の特徴がよく現れており、かつ artifact が少なく計測に適する部位を選定し、一領域につき約 10 枚の B & W ポラロイド写真を 1200 倍で作成した。計測は Hewlett-Packard 社の卓上型計算機 (Model 310) と自製のソフトウェアからなるデジタル画像処理システムを用い、写真をディジタイザーに載せて、細胞および核の輪郭をトレースし、一領域あたり平均 100 個の細胞を計測して入力した。

3) 多変量解析 (クラスター分析) ^{16, 17)}

ここで用いたクラスター分析は、多数の対象間の類似性・非類似性に基づき分類を定義する多変量解析の一手法である。一般には形の属性を多数のパラメータによって表し、数値化されたデータを計算機で解析する。その原理を図 3 に示したが、ここでは 5 個の病変につき x_1, x_2 の 2 変量を計測した場合を例示している。病変相互間の数学的距離 (2 次元 Euclid 距離) を総当たりで計算し、近いもの同士を順にまとめて群を形成する。この例では 2 個のクラスターが形成されているが、その過程は樹形図 (dendrogram) に表現することができる。

2 個の病変 i, j 間の距離 $d(i, j)$ は、任意の p 個の変量に関して p 次元標準化 Euclid 距離として

$$d^2(i, j) = \sum_{k=1}^p (x_{ki} - x_{kj})^2 (1/\sigma_k)^2$$

の形で定義される。ここで x_{ki}, x_{kj} は対象 $i,$

j 各々の k 番目の変量に関するパラメータ値、 σ_k^2 は k に関する分散を表す。

この原理に基づき、得られたデータから東北大学大型計算機 (NEC:ACOS 2000) とそのアプリケーションソフトにて、12次元クラスター分析を施行した。クラスター形成の仕方はいくつかの方法があるが、最も多用される Ward 法^{50, 51)}を採用した。

なお、今回のような対象においては、クラスター形成に際して各変量が関わっている重み (寄与率) を再現可能な仕方で定めることは殆ど不可能であるので、各変量を分散で標準化したものでクラスター分析を行った。クラスター分析の応用についての詳細は文献 (52) を参照されたい。

4) クラスター分析結果の検定

クラスター分析結果の妥当性を検討するために多群線形判別分析を施行した。すなわち各クラスターに分類された病変のデータから

判別式を作り、各病変の再判別を行い、誤判別が一定以下であれば再現可能な分類と見做すわけである。なおここでは以下の解析を行うにあたり、演算過程で障害となる各変量間の従属性を取り除くために、最初にデータを主成分分析¹⁷⁾ にかける、累積寄与率が92.2%となる第5主成分までを採用し、パラメータ数を12から5に減らして行った。

他方、12次元データのままだでは各クラスターの相互関係を視覚的に把握することは不可能なので、正準判別分析¹⁷⁾ により可視化することを試みた。すなわちデータから第一正準変量、第二正準変量を計算し、各々を直交座標上に表現して、二次元の散布図を作成した。

5) 免疫組織化学

全180領域に対して6種の免疫組織化学的検索を行った。HE染色切片に連続した切片にstreptavidin-biotin complex peroxi-

dase法（ニチレイ・東京）により、SPA に対する抗体 (PE-10)²³⁾, Urine protein 1に対する抗体 (DAKO・Glostrup)³³⁾, CEA に対する抗体（持田・東京）, チトクローム P-450 のうち II B1, I A1, II E1に対する各抗体⁵³⁾ を反応させた。免疫染色における反応様式は、後述（結果欄3）・4）・5）および表3・4・5）の方法により grading を行った。この評価は、モルフォメトリーを行った際の計測域が評価される様に注意を払った。Grading の結果は、クラスター分析により定められた細胞形態の3群に AH・クララ細胞・II型肺胞上皮細胞を加えた6群間における有意差の存否に焦点をあて、Kruskal-Wallis rank-sum test⁵⁴⁾ を用いて検討した。また Bonferroni 法⁵⁴⁾ を用いて、有意差があった場合はどの2群間に存在するかを定めた。

6) 超微形態

高分化型腺癌例の切除肺を、切除後直ちに

氷冷しつつトリミングし、Karnovsky 1/2 固定液で4℃一晩振盪固定し、通常の方法で超薄切片を作成し、透過電顕（日立 H-600）にて観察した。この方法でクララ細胞型腺癌2例と、そのうち1例の腺癌周囲に認められたAAH 1病変に対し、超微形態像を比較検討した。

3. 結 果

1) クラスター分析

図 4に対象とした 97 病変のクラスター分析結果を dendrogram の形で示す。全体が大きく 3群に分れていることがわかる。このうちクラスター1 は35病変を含み、主にII型肺胞上皮型腺癌、クラスター2 は26病変で大部分が AAH、クラスター3 は36病変で大部分がクララ細胞型腺癌とそれぞれ計測前に診断された病変がまとめられている。ここでクラスター 2で AAH、クラスター 3ではクララ細胞型腺癌がほぼ純粋な群を形成しているのに比

し、クラスター1 ではⅡ型肺胞上皮型腺癌のほかに AAHと診断された病変がかなり混在していることが注目される。

次に各クラスターのパラメータ平均を見ると (表1)、クラスター1 では、大型の丸い核 ($Sn=35.9$, $Qn=0.82$)と細胞自由縁の褶曲度が弱い ($Cp=1.51$) ことからⅡ型肺胞上皮型腺癌の特徴が表れており、クラスター3 は、核が大型かつ多型性で ($Sn=48.7$, $V(Sn)=329.3$)、細胞の丈が高く不揃いであり ($Hc=19.9$, $V(Hc)=39.82$)、自由縁の褶曲度も強い ($Cp=3.52$) ことから、クララ細胞型の特徴を示している。またクラスター2 は、核の大きさその他、異型の指標が上記の 2群よりいずれも低い値をとっていることがわかる。なお、表には示さないが、クラスター1 に入った AAH ($Sn=34.1$, $Sc=89.1$) はクラスター2 に入った AAH ($Sn=23.6$, $Sc=67.9$)に比し、核・細胞質ともに大型で、より異型度が高い傾向が見られた。

2) クラスター分析結果の検討 多群線形判別分析の結果を表2 に示す。再判別率は 80 %以上で、この分類の妥当性が支持された。

次に正準判別分析による二次元散布図 (図5) から、II 型肺胞上皮型腺癌 (クラスター1) とクララ細胞型腺癌 (クラスター3) とは互いに明確に分離しているのに比し、AAH (クラスター2) は群を形成しつつも、クラスター1 との間にoverlapping が著しく、分離が良好ではないことがわかる。またクララ細胞型とも、ある程度重なりを有している。なお dendrogram 上は、AAH はクラスター1 と2 に分かれたが、散布図ではAAH 例は 1・2の両群に分離しているようにはみえない。おそらく AAH例は全体として連続した分散の大きい非球形のクラスターを形成しており、このために Ward 法によるクラスター分析では一部が隣接する群にまとめられたと考えられる。

3) 細胞分化の指標としての免疫組織化学—
—サーファクタント・アポ蛋白 A (SPA);
Urine protein 1 (UP1)

SPA, UP1 の発現様式は negative から、すべての細胞に陽性反応をみる diffusely positive までさまざまであるが、いずれの場合も一様ではなく反応性の異なる細胞がさまざまな割合でモザイク状に混在していた (図6、7)。そこで計測域中の陽性細胞の比率を表3のように6段階に分けて、各例の染色性を評価した。図8、9にその結果を示す。ここでは、検索に適した SPA 175領域・UP1 172領域につき検討を行った。

SPA は、正常の II 型肺胞上皮と AH 群ではほとんどの例で +4 ~+5 の強い陽性反応を呈するのに対し、腺癌や AAH では 0~+5 の広い範囲に分布していた (図8)。統計的にこれら 6群間の染色性に有意差を認め ($P<0.001$)、群間の有意差は control (AH・II 型肺胞上皮細胞) とその他の群間にのみ (control

とクラスター2の間で $P < 0.01$, その他の群間では $P < 0.001$) 存在することが証明された。なお癌・AAHの3クラスター間には有意な差は認められなかった。

UP1は正常クララ細胞で全例+3以上の強い陽性反応を呈するのに対し、AH・II型肺胞上皮細胞は全例陰性で、クララ細胞への特異性は極めて高い。腺癌・AAHの3群も大部分の例で陰性であった(図9)。統計的にはこれら6群間の染色性に有意差を認め($P < 0.001$)、群間の有意差はクララ細胞と他の5群間のみ($P < 0.001$) 存在することが証明された。ここでも腺癌・AAHの3群間には有意な差は認められなかった。

4) 未熟性の指標としての免疫組織化学——CEA

大腸や膵管上皮におけるCEAの発現様式は、細胞異型度によって異なることが知られ、これに対応させた免疫組織化学的異型度分類

が名倉^{41, 42)}により提唱されている。今回の肺病変でも同様な反応の局在における差が認められたので (図10)、これに準じて 5段階に分類した (表4)。図11に各病変の染色性の結果を示す。ここでは 173領域につき検討を行ったが、control 群は全例陰性(0)であり、癌・AAHの 3群は 0～ +3 にわたっていた (図11)。統計的に 6群間の染色性には有意差が認められ ($P<0.001$)、有意差は control とその他の群間にのみ認められた (AH とクラスター1・2・3 との間でそれぞれ $P<0.01$, $P<0.05$, $P<0.001$, II 型肺胞上皮細胞とクラスター1・2・3 との間でそれぞれ $P<0.001$, $P<0.01$, $P<0.001$, クララ細胞とクラスター1・2・3 との間でそれぞれ $P<0.001$, $P<0.01$, $P<0.001$)。ここでも癌・AAH の 3クラスター間では有意な差は認められなかった。

5) チトクローム P-450 (I A1, II B1, II E1) の染色性

チトクローム P-450中の I A1, II B1, II E1
による染色性 (図12、13、14) については、上
述の各抗体でみられたような反応の局在性
における違いは認められなかったため、表5
のように反応の強度を 3段階に分け評価した。
図15、16、17にその結果を示す。ここでは 3種
とも 172領域につき検討を行った。

I A1は、AH・II型肺胞上皮細胞以外は、い
ずれにおいても大部分の例で、強い陽性反応
(+2)を呈していた (図15)。これら 6群間の
染色性には有意差が認められ ($P<0.001$)、有
意差は AH・II型肺胞上皮細胞とその他の群
間にのみ認められた (AH とクラスター3・ク
ララ細胞との間でそれぞれ $P<0.01$, $P<0.05$;
II型肺胞上皮細胞とクラスター1・2・3・クラ
ラ細胞との間で $P<0.001$)。

II B1ではII型肺胞上皮細胞以外は、いずれ
の群においても大部分の例で、強い陽性反応
(+2)を呈し (図16)、これら 6群間の染色性
には有意差が認められた ($P<0.001$)。有意差

は II 型肺胞上皮細胞とその他の群間にのみ認められた (クラスター1・3 との間で $P < 0.001$; クラスター2・クララ細胞との間で $P < 0.01$; AH との間で $P < 0.05$)。

II E1でも II 型肺胞上皮細胞の群以外は、大部分の例で、強い陽性反応 (+2) を呈していた (図17)。これら 6群間の染色性には有意差が認められ ($P < 0.001$)、有意差は II 型肺胞上皮細胞とその他の群間にのみ認められた (クラスター1・3・クララ細胞との間で $P < 0.001$; クラスター2・AHとの間で $P < 0.01$)。なおこれら 3種のチトクローム P-450 のいずれに關しても、癌・AAH を含む 3クラスターの間ではいかなる組み合わせでも有意な差は認められなかった。

6) 電顕による超微形態像の比較

検索した2例のクララ細胞型腺癌では、共に小胞体、ミトコンドリアなどの小器官がよく発達しており、光顕レベルでは同一の細胞

蛭型に属する腺癌でありながら、1例は lamellar inclusion (図18a)、他の1例は membrane bound electron dense granule が発達している (図18b) などの差が認められた。AAH の一病変は前者の腺癌病巣周囲に認められたものであるが、同様な lamellar inclusion, membrane bound electron dense granule が認められた (図19)。しかし AAH の核は腺癌とは異なり、heterochromatin や核膜肥厚は見られなかった。また、腺癌・AAH 共に種々の形態の核内封入体が認められた。

4. 考 察

末梢型肺腺癌の組織発生についてはFriedrich以来⁵⁵⁾、陳旧性結核のような瘢痕性病変から生じるという「瘢痕癌」の考え方が広く受け入れられてきた。これに対して下里ら^{1, 44, 46)}は、腫瘍内瘢痕巣とみられたものの多くは腫瘍発生後に形成されるという de novo 発癌の見解を提唱した。一方、今日い

うところの AAHに相当する病変の存在は古くから知られ、Spencer ら⁵⁶⁻⁵⁸⁾は種々の上皮異型を伴う過形成性病変が腺癌に先行することを重視したが、これなども今日からみれば、概ね AAHを対象としていたと考えられる。この病変の本体に関しては、非腫瘍性の過形成⁵⁹⁾、あるいは一種の腺腫（腫瘍性）^{5, 7)}という二つの考え方が行われてきた。

近年、CEA に対する免疫組織化学^{6, 60)}、核DNA 量測定⁸⁾などの結果から、AAH は腺癌に先行する癌関連病変であり、その一部は既に癌化している可能性が考えられているが、AAH の臨床的・生物学的意味、また癌との鑑別などについては、なお多くの問題が残されている。その原因としては、AAH に明確な組織診断基準が無く、このため見る人によりその範囲が一定せず、判断に再現性が期待できないことがあげられる。そこで今回、複数のパラメータによる細胞計測と多変量解析を用いて AAHの定義の明確化と肺腺癌との関係の

検討を試みたわけである。その結果、AAH は細胞形態の面で特徴抽出が可能な病変で、癌に近い腫瘍性性格を有し、クララ細胞型・II型肺胞上皮型腺癌のいずれとも近縁な、おそらくは両方向に進展しうるものであることが明らかになった^{12, 13)}。

さて、このように形態面から定義された各カテゴリーは、細胞分化の方向、あるいは生物学的な性質とどのような関係にあるのであろうか。この問題を検討するため6種の抗体による免疫組織化学的検索を行った。このうちSPA²²⁻³²⁾及びUP1^{33, 34)}はそれぞれII型肺胞上皮及びクララ細胞に向かう分化の指標として、またCEA^{26, 41, 42)}は未熟性の指標として、最後にチトクロームP-450³⁵⁻⁴⁰⁾は主にクララ細胞への分化の指標としてのほか、発癌過程における酵素誘導⁶¹⁻⁷¹⁾との関連を検索するために用いたものである。検索には上述のモルフォメトリーを行った領域を対象とし、さらに非腫瘍性の control として、

反応性の病変と考えられる AH^{3, 4, 6)} のほか
正常クララ細胞¹⁸⁻²⁰⁾・II型肺胞上皮細胞²¹⁾
を同時に検索した。

今回用いた抗体で検出される蛋白のうち、
SPA は肺表面活性物質中の主要な特異的蛋白
で、II型肺胞上皮細胞より分泌される。最近
はII型肺胞上皮のほかクララ細胞にも存在す
るという報告^{24, 25)}がある。免疫組織染色で
は、正常II型肺胞上皮以外にII型肺胞上皮型
腺癌で100%⁷²⁾、クララ細胞型腺癌および
AAH でもかなり高率に陽性反応を示すと言わ
れている^{4, 10, 26, 73)}。そこで今回、SPA へ
の抗体である PE-10²³⁾ を主にII型肺胞上皮
へ向かう分化の指標として用い、免疫組織化
学的検討を行った。その結果、AAH (クラス
ター2)では反応性はAHやII型肺胞上皮細胞
と比較して明らかに低く、この点でクラス
ター1・3の2種類の腺癌と同様であった。この
反応態度は、AAHが脱分化の進んだ癌に近い
病変であり、すでに腫瘍化した癌関連病変で

あるというモルフォメトリーでの結果を、生物学的側面から支持していると考えられた。

UP1³³⁾ は尿中低分子蛋白である alpha-microprotein に属する蛋白であるが、その機能は解明されていない。しかし近年、アミノ酸配列の一部が肺の分泌性蛋白である 10kDa Clara cell protein (CC10)^{30, 31, 34, 74-77)} と同一であることが明らかとなり³⁴⁾、健常者の喀痰、気管支肺胞洗浄液、尿、精液中に高濃度に検出されることから、呼吸器や尿生殖器において immunosuppressor として抗炎症性に作用している可能性があるといわれている³⁴⁾。ただし、同様な活性を有しクララ顆粒に局在する antileukoprotease^{78, 79)}とは cross-reactしないものである。この CC10 による肺の免疫組織染色では、クララ細胞のみに選択的に陽性反応が認められ^{74, 75)}、原発性肺腺癌では約10%が陽性を示すとされる^{30, 31, 80)}。そこで CC10 と同一の染色性を示す UP1をクララ細胞への分化の指標

として用い、免疫組織化学的検討を行った。その結果、クラスター1・3のII型肺胞上皮型及びクララ細胞型腺癌では、反応性は群全体として低く、この点においてはAAH（クラスター2）も同様の態度を示した。この結果も、AAHが癌に近いまでに脱分化した病変であり、すでに腫瘍化した癌関連病変であるというモルフォメトリーでの結果を、生物学的側面から支持していると考えられた。また正常のクララ細胞以外は大部分が陰性であることから、UP1はClara cell-AAH-carcinoma sequenceを仮定した場合、その早期に消失する蛋白であると思われた。

CEAについては、大腸・膵などでは免疫組織化学的な反応の細胞内外における局在の差に注目して、異型度分類の試み^{41, 42)}が行われている。これは癌化に伴い、細胞あるいは組織内での物質輸送や遊離機構に障害を生じ、その結果としての極性消失の過程をgrade表現したものと解釈される。文献上、CEA

は肺では腺癌の約 80 %で陽性を示し、AAH では約 30 %が陽性で、そのうち異型度が高いものほど、また大きい病変ほど陽性率が高い傾向があるといわれている⁶⁰⁾。そこで CEAを未熟性の指標としてとらえ、モルフォメトリーで得られた結果との対応について検討した。その結果も AAH は腺癌のクラスターと同様な染色性し、この結果も AAHが癌に近い病変というモルフォメトリーの結果を支持していると考えられた。

チトクローム P-450の中には、薬物代謝の第一相である酸化還元反応に関与する酵素系があり^{70, 71, 81)}、近年化学発癌との関連が注目されている^{61, 62, 65-68, 82)}。生体内で肺は肝臓に次ぐ代表的な薬物代謝臓器であり、P-450 superfamily のうち I A1, II B1, II E1 などが関係するといわれている^{63, 64, 69, 83-86)}。これらはそれぞれ異なる化学物質により酵素誘導され、I A1は benzo(a)pyrene, 3-methylcholanthrene, II B1は pheno-

barbital, II E1は ethanol, acetone などにより induction を受ける^{61, 62, 64, 66, 69-71, 81, 82, 87)}。これらの化学物質には、肺癌発生に関係するタバコの煙に含まれている物質も多い^{64, 65, 67, 69, 84, 88)}。その局在については、ラット肺の免疫組織染色でクララ細胞が II B1、I A1に陽性反応を示し、II 型肺胞上皮細胞は II B1のみ認められ、induction を受けると I A1も認められることが報告されている⁸⁹⁾。また肺癌組織においては I A1の mRNA が非喫煙者で 25 %、喫煙者で 47 %に検出されることが明らかにされている⁸⁵⁾。著者は最初、preliminary に I A1, II B1, II E1に対する抗体を用いて、喫煙者の扁平上皮癌手術例の正常肺部分に免疫染色を試みたところ、他種動物と同様、主にクララ細胞に陽性反応を認めた。またマクロファージや一部の線毛上皮にも陽性反応があり、I 型・II 型肺胞上皮にもごく弱いながら陽性を示す場合があった(未発表データ)。そこで、これ

らの抗体を主にクララ細胞に向かう分化の指標とし、またその程度を比較検討するため、モルフォメトリーを行った 97 病変と control 例について検討した。その結果、既述した SPA 等と同様、3 種の P-450 のいずれにおいても AAH と癌との間には染色性に差はみられなかった。また II B1, II E1 では AH においても腺癌・AAH と同程度の陽性反応があり、これらの間にも有意差は認められなかったが、このことは AH が炎症に伴う病変であり、それ自体は反応性病変であっても、すでに一部は酵素誘導を受けている可能性を示唆するものである。さらに 3 種の P-450 super family がともに AAH や癌においてほとんどの例で陽性であることは、これらの発癌過程に喫煙を含む薬物による化学発癌過程が関与している可能性を示唆していると考えられた。

以上 6 種の免疫染色の結果からは、いずれにおいてもクララ細胞型腺癌・II 型肺胞上皮

型腺癌・AAH の 3 病変を生物学的に区別する根拠は得られなかった。このことは、電顕的にこれら 3 病変には相互に類似性が認められたという今回の結果に符号しており、胞体内顆粒や核内封入体等における電顕的類似性を示す報告^{6), 90-98)}や、AAH がしばしば腺癌と同一の肺に共存するという報告¹⁰⁾ を考え合わせると興味深い。つまりこれらが発生上近縁関係にあり、共通の origin に由来する可能性であって、このことはモルフォメトリーの結果から上に推測したことと一致するものである。

また、AAH と類似した電顕像を示す病変として、いわゆる papillary adenoma of type II pneumocytes⁹⁹⁻¹⁰³⁾ がある。我々は最近、この病変を検索する機会があったので、モルフォメトリー等を用いて AAH との関係を解析したが、その結果 adenoma の papillary pattern に対して、AAH の bronchioloalveolar pattern という構築上の相違はあるもの

の、ともに腺癌に近い腫瘍性病変と考えられる点では類似していることが明らかになった (104, 105)。

なお、組織学的に AAH と診断された病変で、クラスター1 とクラスター2 に分類されたものの間には、今回の免疫染色ではいずれにおいても有意な差は認められなかった (Mann-Whitney test)。

以上より、モルフォメトリーに免疫組織化学、電顕的検索を加えた結果、AAH は電顕・光顕レベルでの形態上だけでなく、生物学的にも癌に近い腫瘍性病変であるといえ、発癌の multistep における一段階である可能性がさらに明らかになったと考える。今後 AAH -adenocarcinoma sequence を仮定した上で、肺腺癌の発生機序をさらに解明していきたい。

ま と め

細胞異型度のモルフォメトリーに免疫組織

化学及び電顕的検索を加えて、肺の異型腺腫様過形成 (AAH) と腺癌との関係及び生物学的な位置づけを検討した結果、以下のことが明らかになった。

1) いずれの視点からみても、AAH は癌に近い腫瘍性病変と考えられる。

2) 免疫染色結果と電顕所見から、クララ細胞型腺癌・II型肺胞上皮型腺癌・AAH を生物学的に区別する根拠は得られない。このことは、これらが発生上密接な関係にあり、共通の origin に由来する可能性を示唆している。

3) 肺腺癌発生過程として、AAH-adenocarcinoma という multistep carcinogenesis が仮定される。

謝 辞

本研究にあたり、貴重な材料を提供して頂いた宮城県立瀬峰病院外科 大久田和弘先生、(株) クラスター・コア生体情報研究所

玉橋信彰先生、東北中央病院外科 廣瀬正徳先生、結核予防会結核研究所病理解剖研究科 河端美則先生、坂総合病院病理科 岩間憲行先生、亀田総合病院病理科 小久保 武先生、同呼吸器内科 金重博司先生、同胸部外科 武士昭彦先生、NTT 東北病院内科 菊地 亮先生、東北大学加齢医学研究所呼吸器再建研究分野 藤村重文先生、斉藤泰紀先生、斉藤 亮先生、菅間敬治先生に深謝致します。

また貴重な抗体を提供して頂いた大阪市立大学医学部化学教室 船江良彦先生、札幌医科大学第一生化学教室 秋野豊明先生、京都大学胸部疾患研究所分子病理学教室 鈴木康弘先生に深謝致します。

また、本研究にあたり御協力・御指導頂いた仙台逋信病院内科 本宮雅吉先生、仙台社会保険病院病理 中村克宏先生、東北大学加齢医学研究所遺伝子機能研究分野 渡辺民朗先生、同呼吸器腫瘍研究分野 貫和敏博先生

、佐藤 研先生、酒井俊彦先生、同病態臓器
構築研究分野 高橋 徹先生、手塚文明先生
、千場良司先生、ほかスタッフの皆様に深謝
致します。

なお、本論文の要旨は、第81回日本病理学
会総会（仙台、1992）、第51回日本癌学会総
会（大阪、1992）、第33回日本肺癌学会総会
（名古屋、1992）、第82回日本病理学会総会
（東京、1993）、第34回日本肺癌学会総会（
東京、1993）にて発表した。

文 献

- 1) Shimosato, Y., Kodama, T., Kameya, T., :
Morphogenesis of peripheral type
adenocarcinoma of the lung. In Shimosato
, Y., Melamed, M. R., and Nettesheim, P. eds,
Morphogenesis of Lung Cancer, vol. 1, 65-89
, CRC Press, Boca Raton, 1982.
- 2) Kodama, T., Biyajima, S., Watanabe, S., et
al.: Morphometric study of
adenocarcinoma and hyperplastic
epithelial lesions in the peripheral
lung. Am. J. Clin. Pathol., 85:146-151, 1986.
- 3) 美谷島季彦：肺腺癌の形態計測学的検討：
特にその鑑別診断ならびに予後との関連につ
いて．肺癌，26:289-297, 1986.
- 4) 児玉哲郎、西山祥行、西脇 裕・他：肺腺
癌と異型増殖性病変、その病理組織学的検討
．肺癌，28:325-333, 1988.
- 5) Miller, R. R., Nelems, B., Evans, K. G., et
al.: Glandular neoplasia of the lung. A

proposed analogy to colonic tumors.

Cancer, 61:1009-1014, 1988.

6) Nakanishi, K.: Alveolar epithelial hyperplasia and adenocarcinoma of the lung. Arch. Pathol. Lab. Med., 114:363-368, 1990.

7) Miller, R. R.: Bronchioloalveolar cell adenomas. Am. J. Surg. Pathol., 10:904-912, 1990.

8) Nakayama, H., Noguchi, M., Tsuchiya, R., et al.: Clonal growth of atypical adenomatous hyperplasia of the lung:

Cytofluorometric analysis of nuclear DNA content. Modern Pathol., 3:314-320, 1990.

9) Weng, S., Tsuchiya, E., Satoh, Y., et al.: Multiple atypical adenomatous

hyperplasia of type II pneumocytes and bronchiolo-alveolar carcinoma.

Histopathology, 16:101-103, 1990.

10) 児玉哲郎、西山祥行、西脇 裕: 肺腺癌

と前癌病変（異型腺腫様過形成）. 日胸, 50:
452-457, 1991.

11) Weng, S., Tsuchiya, E., Kasuga, T., et al.
: Incidence of atypical
bronchioloalveolar cell hyperplasia of
the lung: Relation to histological
subtypes of lung cancer. Virchows Arch. A
Pathol. Anat., 420:463-471, 1992.

12) 森 益子、千場良司、手塚文明・他：細
胞異型度からみた肺の異型腺腫様過形成と腺
癌：モルフォメトリーと多変量解析による取
扱い. 癌の臨床, 39:240-248, 1993.

13) Mori, M., Chiba, R., Takahashi, T.:
Atypical adenomatous hyperplasia of the
lung and its differentiation from
adenocarcinoma: Characterization of
atypical cells by morphometry and
multivariate cluster analysis. Cancer,
72:2331-2340, 1993.

14) 玉井誠一：肺腺癌の前癌病変. 呼吸, 12:

58-63, 1993.

15) Land, H., Parada, L. F., Weinberg, R. A.:
Cellular oncogenes and multistep
carcinogenesis. Science, 222:771-778,
1983.

16) 田中 豊、垂水共之、脇本和昌：パソコン統計解析ハンドブックⅡ．多変量解析編138-159, 共立出版, 東京, 1984.

17) Jonhson, R. A., Wichern, D. W.: Applied
multivariate statistical analysis.
Prentice-Hall, New Jersey, 1988.

18) 木村雄二：肺クララ細胞の形態と機能.
日胸, 1:8-16, 1985.

19) 木村雄二、三浦溥太郎、相田真介：肺クララ細胞. 呼吸, 7:581-587, 1988.

20) Plopper, C. G., Hyde, D. M., Buckpitt, A. R.:
Clara cells, In Crystal, R. G., West, J. B.,
et al.sds, The Lung: Scientific
foundations. 215-228, Raven Press,
New York, 1991.

- 21) 児玉哲郎 : II 型肺胞上皮細胞. 呼吸, 7:
451-458, 1988.
- 22) Sueishi, K., Tanaka, K., Oda, T. :
Immunoultrastructural study of
surfactant system.: Distribution of
specific protein of surface active
material in rabbit lung. Lab. Invest., 37:
136-142, 1977.
- 23) Kuroki, Y., Fukada, Y., Takahashi, H., et
al.: Monoclonal antibodies against human
pulmonary surfactant apoproteins:
Specificity and application in
immunoassay. Biochim. Biophys. Acta, 836:
201-209, 1985.
- 24) Balis, J. U., Paterson, J. F., Paciga, J. E.
, et al.: Distribution and subcellular
localization of surfactant-associated
glycoproteins in human lung. Lab. Invest.
, 52: 657-669, 1985.
- 25) Walker, S. R., Williams, M. C., Benson, B. J

.:Immunocytochemical localization of the major surfactant apoproteins in type II cells, Clara cells, and alveolar macrophages of the rat lung. J.Histochem .Cytochem., 34:1137-1148, 1986.

26) Shimosato, Y., Hirohashi, S., Nakajima, T., et al.: Immunohistochemistry of lung cancer: Cell differentiation and growth properties. In Hansen, H.H. ed, Basic and clinical concepts of lung cancer. 71-87. Kluwer Academic Publishers, Boston, 1989.

27) Gazdar, A.F., Linnoila, R.I., Kurita, Y., et al.: Peripheral airway cell differentiation in human lung cancer cell lines. Cancer Res., 50:5481-5487, 1990.

28) 吉田清一、相原 薫、秋野豊明・他：肺表面活性物質の現在．真興交易医書出版部、東京、1990．

29) 黒木由夫、白鳥正典、秋野豊明：肺胞 II

型細胞とサーファクタント・アポ蛋白. 代謝
, 27:797-809, 1990.

30) Broers, J. L., Jensen, S. M., Travis, W. D.,
et al.: Expression of surfactant
associated protein-A and Clara cell 10
kilodalton mRNA in neoplastic and non-
neoplastic human lung tissue as detected
by in situ hybridization. Lab. Invest.,
66:337-346, 1992.

31) Linnoila, R. I., Jensen, S. M., Steinberg,
S. M., et al.: Peripheral airway cell
marker expression in non-small cell lung
carcinoma: Association with distinct
clinicopathologic features. Am. J. Clin.
Pathol., 97:233-243, 1992.

32) 肺サーファクタントアポ蛋白の現状と抗
SP-A抗体を用いた免疫組織化学的側面. 呼吸
, 1:704-711, 1992.

33) Jackson, P. J., Turner, B., Keen, J. N., et
al.: Purification and partial amino acid

sequence of human urine protein 1:
Evidence for homology with rabbit
uteroglobin. J.Chromatography, 452:359-
367, 1988.

34) Bernard, A., Roels, H., Lauwerys, R., et
al.: Human urinary protein and occurrence
in respiratory tract and urogenital
secretions. Clinica. Chimica. Acta, 207:
239-249, 1992.

35) Boyd, M. R., Statham, C. N., Longo, N. S. :
The pulmonary Clara cell as a target for
toxic chemicals requiring metabolic
activation; Studies with carbon
tetrachloride. J. Pharmacol. Exp. Ther., 212
:109-114, 1980.

36) Sivarajah, K., Jones, K. G., Fouts, J. R.,
et al.: Prostaglandin synthetase and
cytochrome P-450-dependent metabolism of
(\pm) benzo(a)pyrene 7,8-dihydrodiol by
enriched populations of rat Clara cells

and alveolar type II cells. *Cancer Res.*,
43:2632-2636, 1983.

37) Serabjit-Singh, C., J., Nishio, S., J.,
Philpot, R., M., et al.: The Distribution of
cytochrome P-450 monooxygenase in Cells
of the rabbit lung: An ultrastructural
immunocytochemical characterization. *Mol*
. Pharmacol., 33:279-289, 1988.

38) Forkert, P. G., Vessey, M. L., Gelboin, H.
V., et al.: Cytochromes P-450 in murine
lung: An immunohistochemical study with
monoclonal antibodies. *Drug Metab. and*
Disposition, 17:551-555, 1989.

39) Aida, S., Takahashi, Y., Suzuki, E., et al
.: Electron-microscopic evidence for
cytochrome P-450 in Clara cells and type
I pneumocytes of the rat lung.
Respiration, 59:201-210, 1992.

40) Daniels, J. M., Matula, T. I., Massey, T. E.
: DNA binding and mutagenicity of aflatox

in B₁ catalyzed by isolated rabbit lung cells. *Carcinogenesis*, 14:1429-1434, 1993.

41) Hamada, Y., Yamamura, M., Hioki, K., et al.: Immunohistochemical study of carcinoembryonic antigen in patients with colorectal cancer: Correlation with plasma carcinoembryonic antigen levels. *Cancer*, 55:136-141, 1985.

42) 名倉 宏、堤 寛：癌胎児性抗原．渡辺慶一編「免疫組織化学」，病理と臨床Vol.6，臨時増刊号、文光堂：109-119, 1988.

43) 森 益子、千場良司、手塚文明・他：肺腺癌と異型腺腫様過形成——免疫組織化学的分化度と細胞異型度の関連づけの試み．癌の臨床．（印刷中）

44) 下里幸雄：肺癌の形態と、進展様式・予後・機能との関係．肺癌, 20:3-20, 1980.

45) Kimula, Y.: A histochemical and ultrastructural study of adenocarcinoma of the lung. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2:253-264

, 1978.

46) 下里幸雄：肺癌：その組織発生、分化、予後因子について．日病会誌，72:29-57，1983.

47) 児玉哲郎：肺腺癌の細胞分化および予後因子．肺癌，25:387-392, 1985.

48) 木村雄二、三浦溥太郎：肺腺癌の組織発生と亜分類．呼吸，4(12)，1489-1501, 1985.

49) Shimosato, Y.: Pulmonary neoplasm. In Sternberg, S. S. ed, Diagnostic Surgical Pathology. Vol. 1 785-827, Raven Press, New York, 1989.

50) Ward, J. H., Jr.: Hierarchical grouping to optimize an objective function. J. Am. Stat. Assoc., 58:236-244, 1963.

51) Anderberg, M. R.: Cluster analysis for applications. Academic Press, New York, 1973.

52) 千場良司、高橋 徹：肝硬変における形の定量化 II. 多変量解析による組織分類の

再検討. 病理と臨床, 10:459-468, 1992.

53) Funae, Y., Imaoka, S.: Simultaneous purification of multiple forms of rat liver microsomal cytochrome P-450 by high-performance liquid chromatography. Biochim. Biophys. Acta., 842:119-132, 1985.

54) 佐藤郁郎: 科学技術計算と実験データ解析: 統計処理からグラフィック・プレゼンテーションまで. 山海堂, 東京, 1992.

55) Friedrich, G.: Periphere Lungenkrebs auf dem Boden pleuraler Narben. Virchows. Arch. Pathol. Anat. 304:230-247, 1939.

56) Raeburn, C., Spencer, H.: A Study of the origin and development of lung cancer. Thorax. 8:1-10, 1953.

57) 柳沢正治: 肺上皮系の増殖性病変に関する病理組織学的研究 (肺癌の発生母地についての一考察). 癌の臨床. 5:667-680, 1959.

58) Meyer, E. L., Liebow, A. A.: A relationship of interstitial pneumonia,

honeycombing and atypical epithelial proliferation to cancer of the lung. Cancer.18:322-351,1965.

59) Friedländer, C.: Experimentaluntersuchungen über chronische Pneumonie und Lungenschwindsucht. Virchow. Arch. Anat. 68:325-363, 1876.

60) 森永正二郎、下里幸雄：肺末梢微小癌の病理。下里幸雄、高安賢一編「微小癌」，病理と臨床Vol.5,臨時増刊号、文光堂:74-80, 1987.

61) Heidelberger, C.: Chemical carcinogenesis.. Ann. Rev. Biochem., 44:79-121, 1975.

62) Coon, M. J., Conney, A. H., Estabrook, R. W., et al. eds. Microsomes, drug oxidations, and chemical carcinogenesis. Academic Press, New York, 1980.

63) Kouri, R., E., McKinney, C., E., Slomiany, D., J., et al.: Positive correlation between high arylhydrocarbon hydroxylase

activity and primary lung cancer as analyzed in cryopreserved lymphocytes. Cancer Res., 42:5030-5037, 1982.

64) Reznik-Schuller, H.M. ed: Comparative respiratory tract carcinogenesis. CRC Press, Boca Raton, 1983.

65) Petruzzelli, S., Camus, A.-M., Carrozzi, L., et al.: Long-lasting effects of tobacco smoking on pulmonary drug-metabolizing enzymes: A case-control study on lung cancer patients. Cancer Res., 48:4695-4700, 1988.

66) Guengerich, F.P.: Roles of cytochrome P-450 enzymes in chemical carcinogenesis and cancer. Cancer Res., 48:2946-2954, 1988.

67) Law, M.R.: Genetic predisposition to lung cancer. Br. J. Cancer, 61:195-206, 1990.

68) Miles, J.S., Wolf, C.R.: Developments

and perspectives on the role of
cytochrome P450s in chemical
carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 12:2195-
2199, 1991.

69) Rojas, M., Camus, A.-M., Alexandrov, K.,
et al.: Stereoselective metabolism of (-)
-benzo(a)pyrene-7,8-diol by human lung
microsomes and peripheral blood
lymphocytes: effect of smoking.
Carcinogenesis, 13:929-933, 1992.

70) 佐藤 了、大村恒雄: 薬物代謝の酵素系
. 講談社, 東京, 1988.

71) 武森重樹、小南思郎: チトクローム
P-450. 東大出版会, 東京, 1990.

72) Singh, G., Katyal, S., L., Torikata, C.:
Carcinoma of type II pneumocytes. *Am. J.*
Pathol., 102:195-208, 1981.

73) Mizutani, Y., Nakajima, T., Morinaga, S.,
et al.: Immunohistochemical localization
of pulmonary surfactant apoproteins in

various lung tumors:Special reference to nonmucus producing lung adenocarcinomas. Cancer, 61:532-537, 1988.

74) Singh, G., Katyal, S. L., Ward, M., et al.: Secretory proteins of the lung in rodents:Immunocytochemistry. J.Histochem. Cytochem., 33:564-568, 1985.

75) Bedetti, C. D., Singh, J., Singh, G., et al.:Ultrastructural localization of rat Clara cell 10 KD secretory protein by the immunogold technique using polyclonal and monoclonal antibodies. J.Histochem. Cytochem., 35:789-794, 1987.

76) Singh, G., Katyal, S. L., Brown, W. E., et al.:Clara cell 10 kDa protein(CC10): Comparison of structure and function to uteroglobin. Biochim.Biophys.Acta., 1039: 348-355, 1990.

77) Strum, J. M., Singh, G., Katyal, S. L., et al.:Immunochemical localization of Clara

cell protein by light and electron microscopy in conducting airways of fetal and neonatal hamster lung. Anat. Rec. 227:77-86, 1990.

78) De Water, R., Willems, L.N.A., Van Muijen, G.N.P., et al.: Ultrastructural localization of bronchial antileucoprotease in central and peripheral human airways by a gold-labeling technique using monoclonal antibodies. Am. Rev. Respir. Dis., 133: 882-890, 1986.

79) Willems, L.N.A., Kramps, J.A., Stijnen, T., et al.: Antileukoprotease-containing bronchiolar cells. Am. Rev. Respir. Dis., 139: 1244-1250, 1989.

80) Singh, G., Singh, J., Katyal, S., et al.: Identification, cellular localization, isolation, and characterization of human Clara cell-specific 10KD protein. J.

Histochem. Cytochem., 36:73-80, 1988.

81) Gonzalez, F. J.: The molecular biology of cytochrome P450s. Pharmacol. Rev., 40: 243-288, 1989.

82) 渡辺民朗: 化学発癌におけるチトクローム P-450 の役割. Oncologia, 23:68-77, 1990.

83) Kawajiri, K., Nakachi, K., Imai, K., et al.: Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P450 I A1 gene. F. E. B. S., 263:131-133, 1990.

84) 林 慎一、川尻 要: P450遺伝子の多型と発癌感受性. 代謝, 28:11-19, 1991.

85) McLemore, T. L., Adelberg, S., Liu, M. C., et al.: Expression of CYT1A1 gene in patients with lung cancer: Evidence for cigarette smoke-induced gene expression in normal lung tissue and for altered gene regulation in primary pulmonary

carcinomas. J.Natl.Cancer Inst.,82:1333-1339,1990.

86) Guengerich, F., P., Kim, D-H., Iwasaki, M.
:Role of human cytochrome P-450 IIE1 in
the oxidation of many low molecular
weight cancer suspects. Chem.Res.Toxicol
.,4:168-179,1991.

87) Anderson, L.M., Ward, J.M., Park, S.S.,
et al.:Immunohistochemical determination
of inducibility phenotype with a
monoclonal antibody to a
methylcholanthrene-inducible isozyme of
cytochrome P-450¹. Cancer Res.,47:6079-
6085,1987.

88) Hoffmann, D., Wynder, E.L. :
Environmental respiratory carcinogenesis
. In Searle, C.E. ed., Chemical carcinogens.
324-365, American chemical society, 1976.

89) Keith, I.M., Olson, E.B., Jr. Wilson, N.M.
, et al.:Immunological identification

and effects of 3-methylcholanthrene and phenobarbital on rat pulmonary cytochrome P-450. *Cancer Res.*, 47:1878-1882, 1987.

90) Coalson, J. J., Mohr, J. A., Pirtle, J. K., et al.: Electron microscopy of neoplasms in the lung with special emphasis on the alveolar cell carcinoma. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 101:181-197, 1970.

91) Kuhn, C.: Fine structure of bronchiolo-alveolar cell carcinoma. *Cancer*, 30:1107-1118, 1972.

92) Jacques, J., Currie, W.: Bronchiolo-alveolar carcinoma: A Clara cell tumor?. *Cancer*, 40:2171-2180, 1977.

93) Torikata, C., Ishiwata, K.: Intranuclear tubular structures observed in the cells of an alveolar cell carcinoma of the lung. *Cancer*, 40:1194-1201, 1977.

94) Tsumuraya, M., Kodama, T., Kameya, Y., et

al.:Light and electron microscopic analysis of intranuclear inclusions in papillary adenocarcinoma of the lung. Acta Cytol.,25:523-532,1981.

95) Kodama,T.,Shimosato,Y.,Watanabe,S., et al.:Lung tumor in a 54-year-old female. Ultrastruct. Pathol.,227-234, 1984.

96) Ogata,T.,Endo,K.:Clara cell granules of peripheral lung cancers. Cancer,54: 1635-1644,1984.

97) Horie,A.,Kotoo,Y.,Ohta,M.,et al.: Relation of fine structure to prognosis for papillary adenocarcinoma of the lung . Hum.pathol.,15:870-879,1984.

98) Yazquez,M.,Sidhu,G.S.:Surfactant production by neoplastic type II pneumocytes. Ultrastruct. Pathol.,12:605 -612,1988.

99) Spencer,H.,Dail,D.H., Arneaud,J.:

Non-invasive bronchial epithelial
papillary tumors. *Cancer*, 45:1486-1497,
1980.

100) Fantone, J.C., Geisinger, K.R.,
Appelman, H.D.: Papillary adenoma of the
lung with lamellar and electron dense
granules. *Cancer*, 50:2839-2844, 1982.

101) Noguchi, M., Kodama, T., Shimosato, Y.,
et al.: Papillary adenoma of type 2
pneumocytes. *Am. J. Surg. Pathol.*, 10:134-
139, 1986.

102) Fine, G. and Chang, C.: Adenoma of
type 2 pneumocytes with oncocytic
features. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 115:797-
801, 1991.

103) Fukuda, T., Ohnishi, Y., Kanai, I., et al
.: Papillary adenoma of the lung. *Acta.
Pathol. Jpn.*, 42:56-61, 1992.

104) 森 益子、千場良司、手塚文明・他：肺
のいわゆる papillary adenoma of type 2

pneumocytes 症例の検討. 病理と臨床, 11:
1349-1357, 1993.

105) 森 益子、千場良司、鍛冶光司・他: い
わゆる肺の papillary adenoma. ——免疫組
織化学・電顕・形態計量による検討. 病院病
理. (印刷中)

図 1 各病変の代表的な組織像. a:クララ細胞型腺癌. b: II 型肺胞上皮型腺癌. c:異型腺腫様過形成 (異型度が弱い部位). d:異型腺腫様過形成 (異型度が強い部位).
× 66, HE.

図 2 細胞異型度の数量化に用いた 12 パラメータ.

図 3 クラスタ分析の原理. 左の X_1, X_2 座標上に分散する 5 個のサンプルを例として、右の樹形図 (dendrogram) を作る。説明は本文を参照。

図 4 97 病変のクラスタ分析の結果を表す樹形図. 大きく 3 つのクラスタに分離している。番号は病変番号。

AAH:異型腺腫様過形成. 2: II 型肺胞上皮型腺癌. C:クララ細胞型腺癌。

図5 97病変の正準判別分析の結果を表す散布図。AAH 群はII型肺胞上皮型腺癌とクララ細胞型腺癌の両群と重なりを有していることがわかる。

図6 サーファクタント・アポ蛋白 Aによる免疫組織染色。a:クララ細胞型腺癌 (Grade +2) . b:II型肺胞上皮型腺癌 (Grade +5) . c:異型腺腫様過形成(AAH) (Grade +4) . d:腺腫様過形成(AH) (Grade +5) . Grading の仕方は表3参照。

図7 Urine Protein 1 による免疫組織染色。a:クララ細胞型腺癌 (Grade +4) . b:II型肺胞上皮型腺癌 (Grade +2) . c:異型腺腫様過形成(AAH) (Grade +3) . d:腺腫様過形成(AH) (Grade +0) . Grading の仕方は表3参照。

図8 サーファクタント・アポ蛋白 Aによる

免疫組織染色の評価。1ドットは1病変。

図9 Urine Protein 1 による免疫組織染色の評価。1ドットは1病変。

図10 癌胎児性抗原(CEA)による免疫組織染色。a:クララ細胞型腺癌 (Grade +3) . b: II 型肺胞上皮型腺癌 (Grade +3) . c: 異型腺腫様過形成(AAH) (Grade +2) . d:腺腫様過形成(AH) (Grade 0) . Grading の仕方は表4参照。

図11 癌胎児性抗原(CEA)による免疫組織染色の評価。1ドットは1病変。

図12 チトクローム P-450 (I A1)による免疫組織染色。a:クララ細胞型腺癌 (Grade +2) . b: II 型肺胞上皮型腺癌 (Grade +2) . c:異型腺腫様過形成(AAH) (Grade +2) . d:腺腫様過形成(AH) (Grade +2) .

Grading の仕方は表 5 参照。

図 1 3 チトクローム P-450 (II B1) による
免疫組織染色. a:クララ細胞型腺癌 (Grade
+2). b:II 型肺胞上皮型腺癌 (Grade +2)
. c:異型腺腫様過形成 (AAH) (Grade +2).
d:腺腫様過形成 (AH) (Grade +1) .

Grading の仕方は表 5 参照。

図 1 4 チトクローム P-450 (II E1) による
免疫組織染色. a:クララ細胞型腺癌 (Grade
+2). b:II 型肺胞上皮型腺癌 (Grade +2)
. c:異型腺腫様過形成 (AAH) (Grade +2).
d:腺腫様過形成 (AH) (Grade +2) .

Grading の仕方は表 5 参照。

図 1 5 チトクローム P-450 (I A1) による
免疫組織染色の評価。1 ドットは 1 病変。

図 1 6 チトクローム P-450 (II B1) による

免疫組織染色の評価。1ドットは1病変。

図17 チトクローム P-450 (H E1) による
免疫組織染色の評価。1ドットは1病変。

図18 クララ細胞型腺癌の電顕像。

a : lamellar inclusion を認める。×5200

挿入図×20580

b: membrane bound electron dense granule

を認める。×3900 挿入図×6000

図19 異型腺腫様過形成(AAH)の電顕像。

Lamellar inclusionと membrane bound

electron dense granuleを認める。×6200

挿入図×48000

表1 各クラスターにおけるパラメータ平均
値。

表2 97病変の多群判別分析の結果。D₁₋₃は

各群の判別式. 各症例の第1-5 主成分値 (P_1 - P_5) を 3つの判別式に代入し、最も大きな値を与える式の群に分類する。

$$D_1 = 2.1784 P_1 + 0.6450 P_2 - 0.1957 P_3 + 1.9066 P_4 - 2.0677 P_5$$

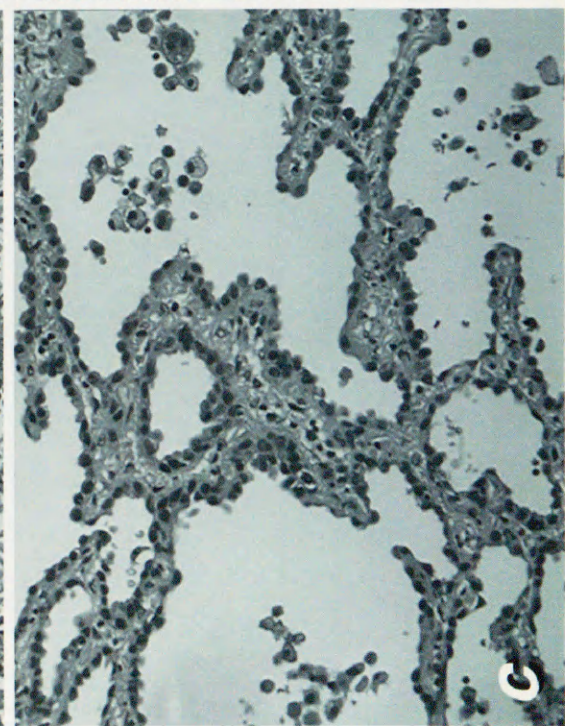
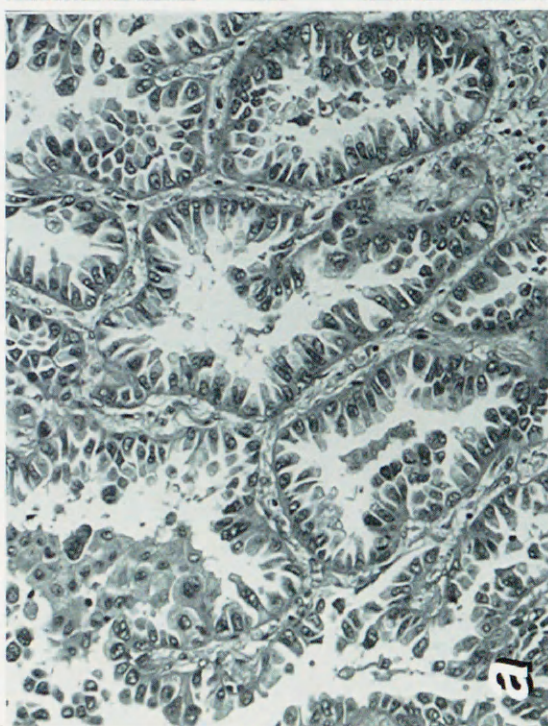
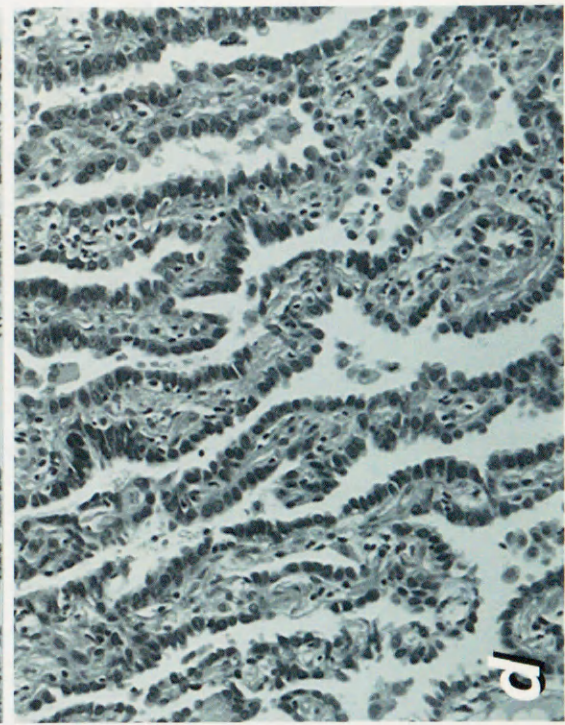
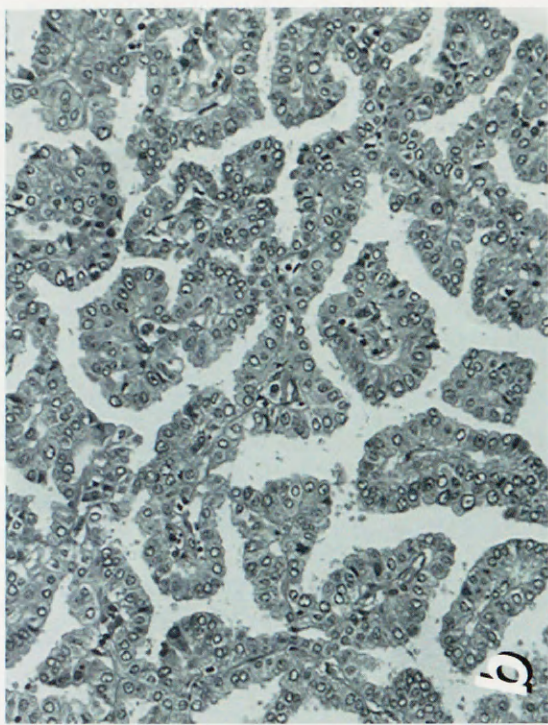
$$D_2 = -1.5852 P_1 + 0.5220 P_2 - 0.2421 P_3 - 1.4048 P_4 + 2.0362 P_5$$

$$D_3 = -1.0630 P_1 - 1.0510 P_2 + 0.3812 P_3 - 0.9175 P_4 + 0.6141 P_5$$

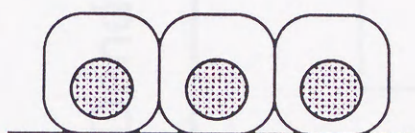
表3 サーファクタント・アポ蛋白 A/
Urine Protein 1 の免疫染色様式 (Grading) .

表4 癌胎児性抗原 (CEA) の免疫染色様式 (Grading) .

表5 チトクローム P-450 (I A1 / II B1/ II E1) の免疫染色様式 (Grading) .



The area of nucleus mean S_n
variance V_{S_n}



The cellular area mean S_c

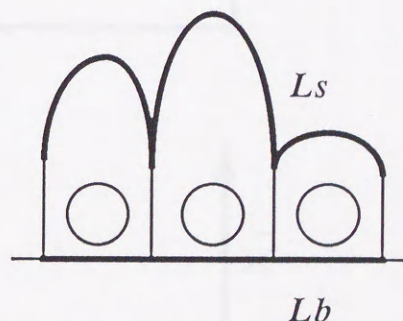


The form factor of nucleus = $4\pi S_n / L_n^2$
 L_n : the perimeter length of nucleus
mean Q_n
variance V_{Q_n}



$Q_n = 0.3$ $Q_n = 0.5$ $Q_n = 1.0$

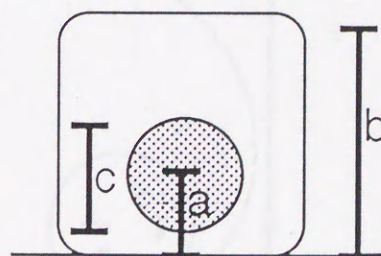
The grade of cell protrusion = L_s / L_b
mean C_p



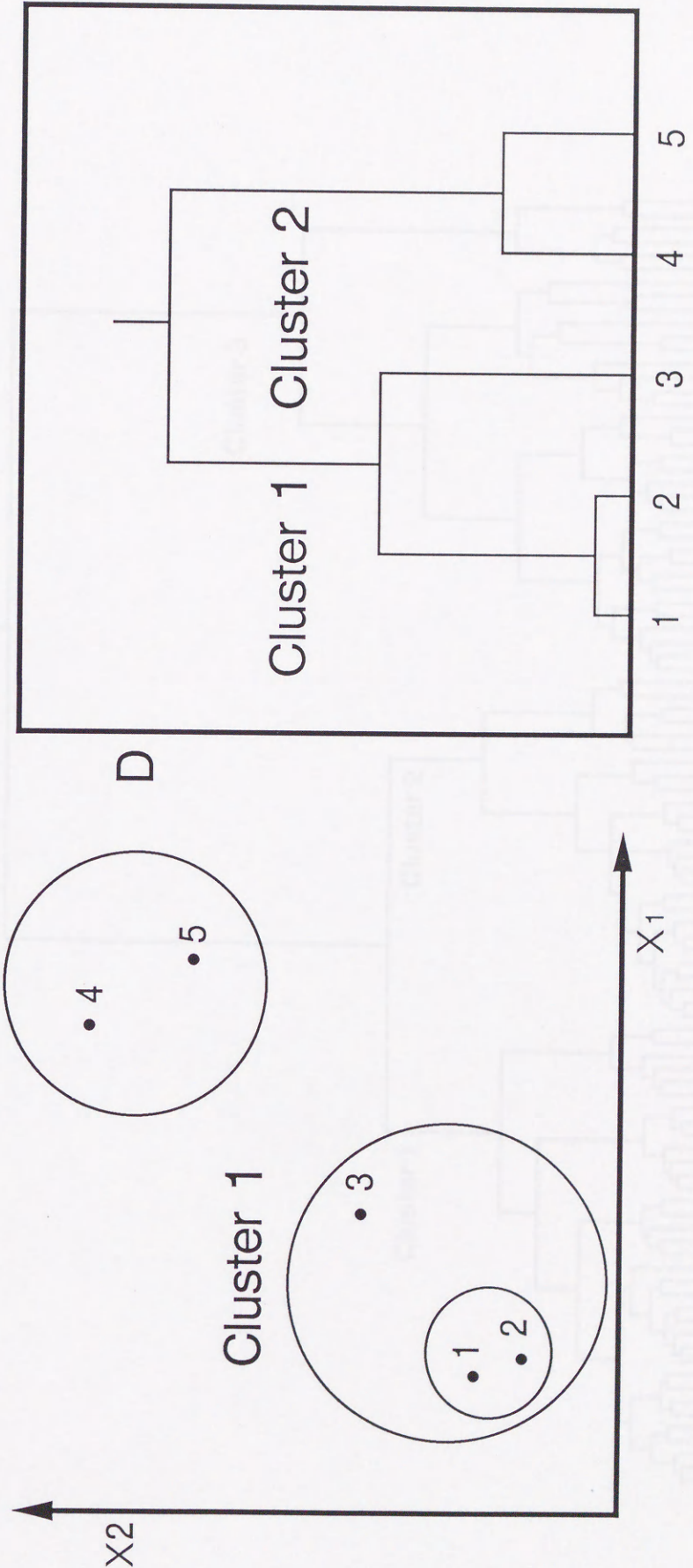
The polarity of nucleus = a / b
mean P_n
variance V_{P_n}

The cellular height = b
mean H_c
variance V_{H_c}

The nuclear length = c
mean H_n
variance V_{H_n}



Dendrogram



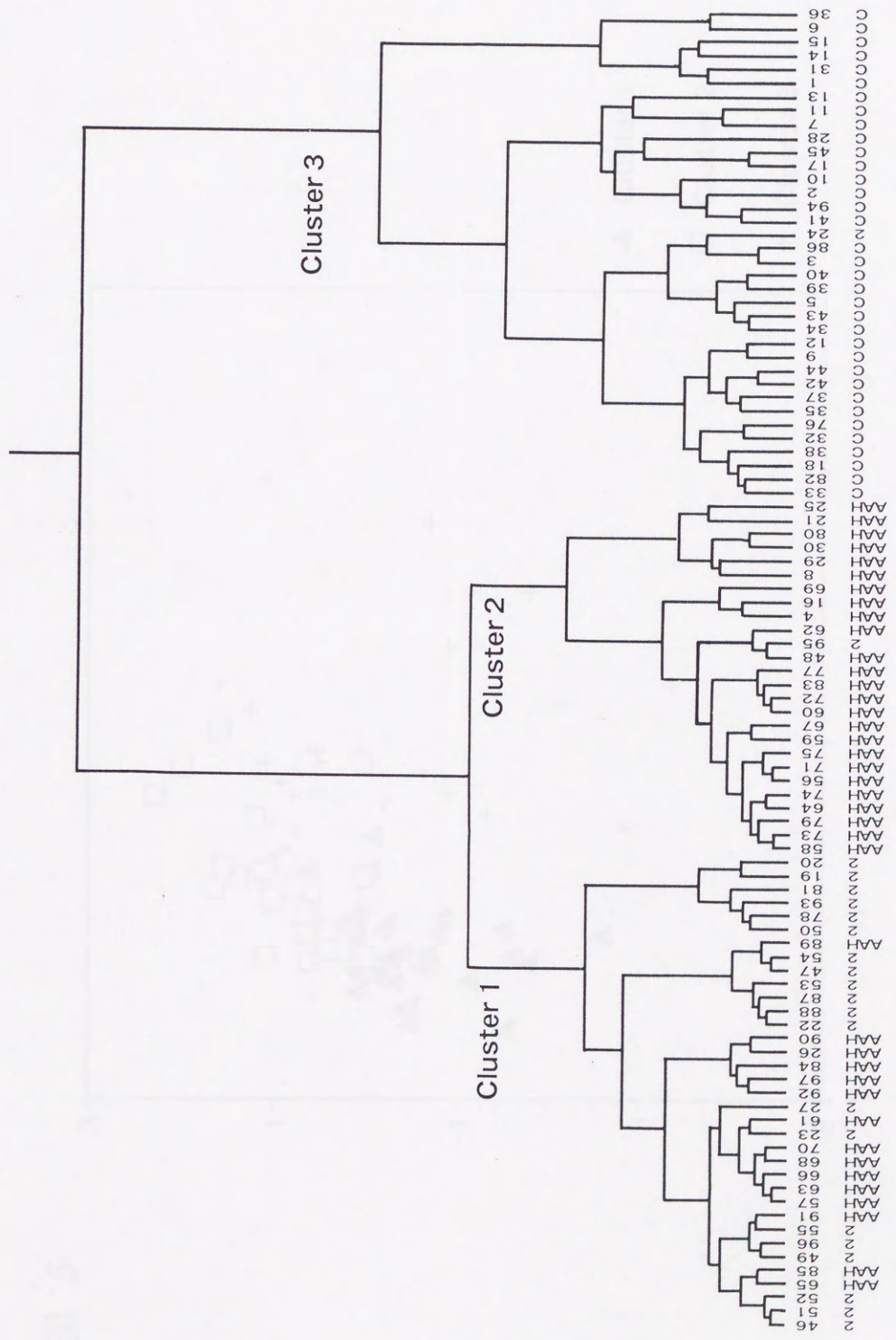
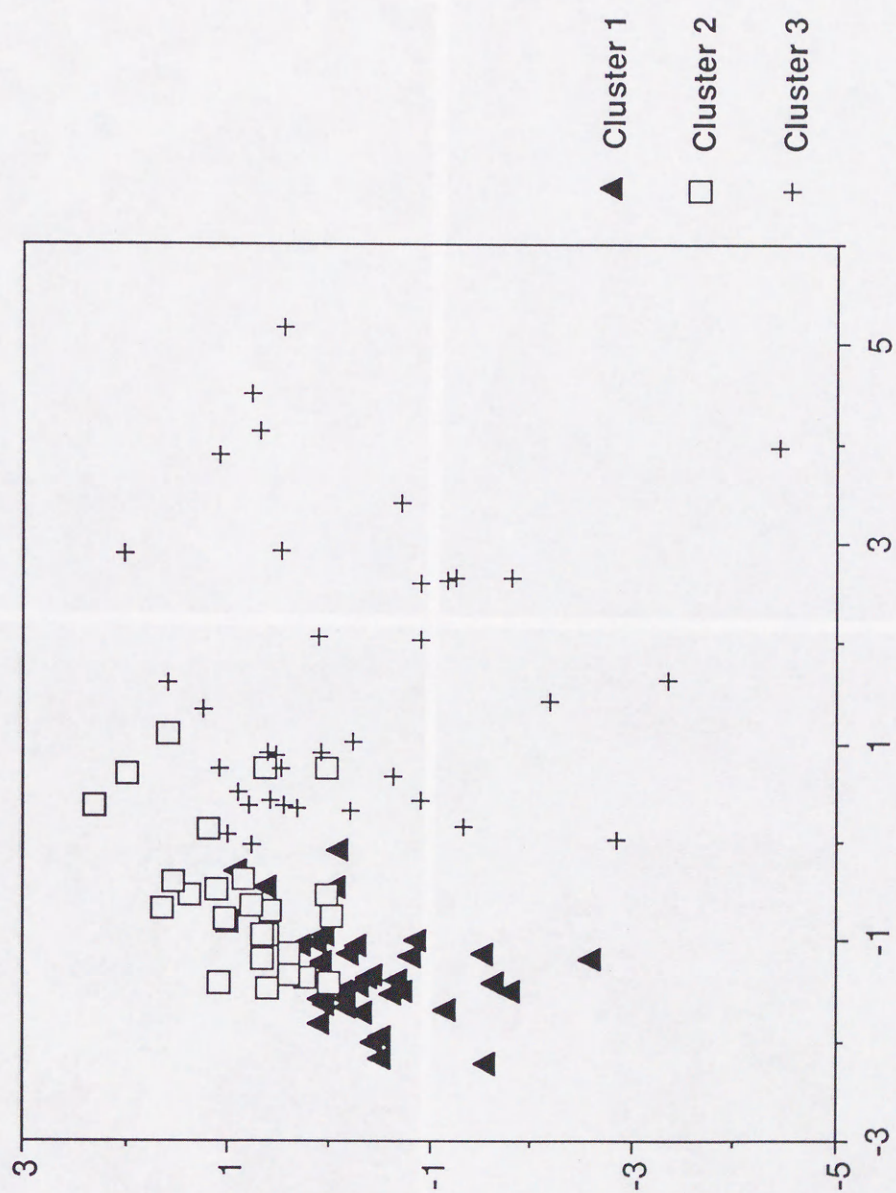
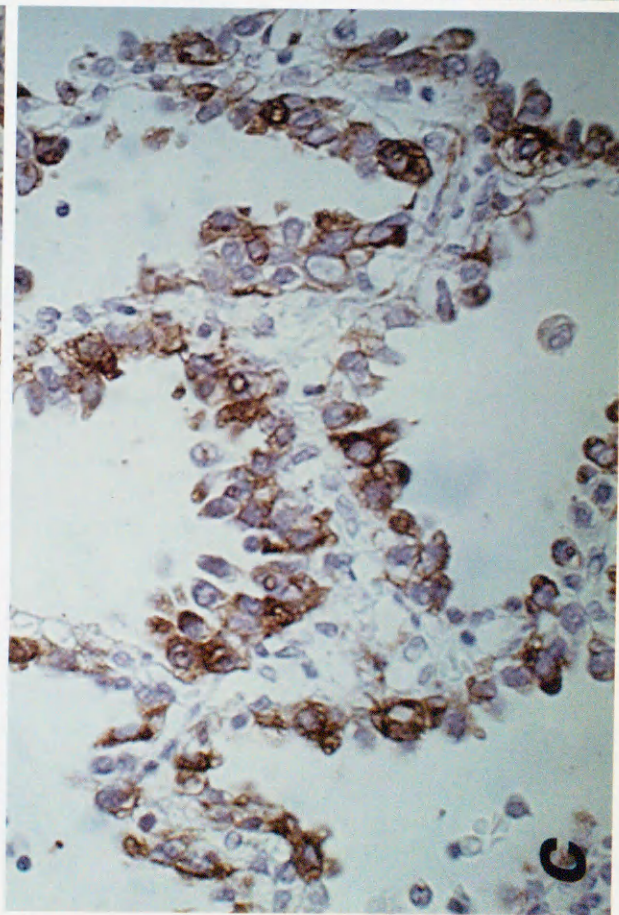
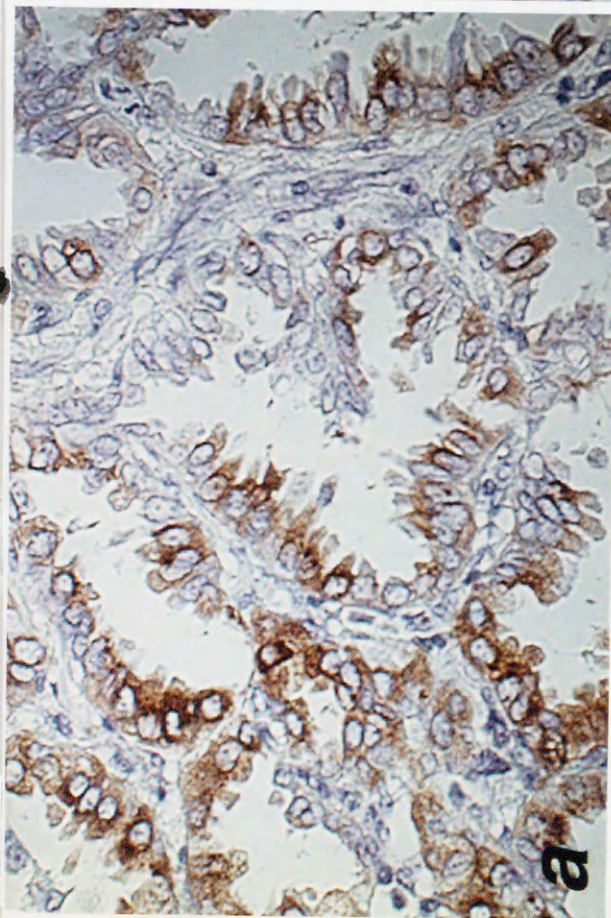
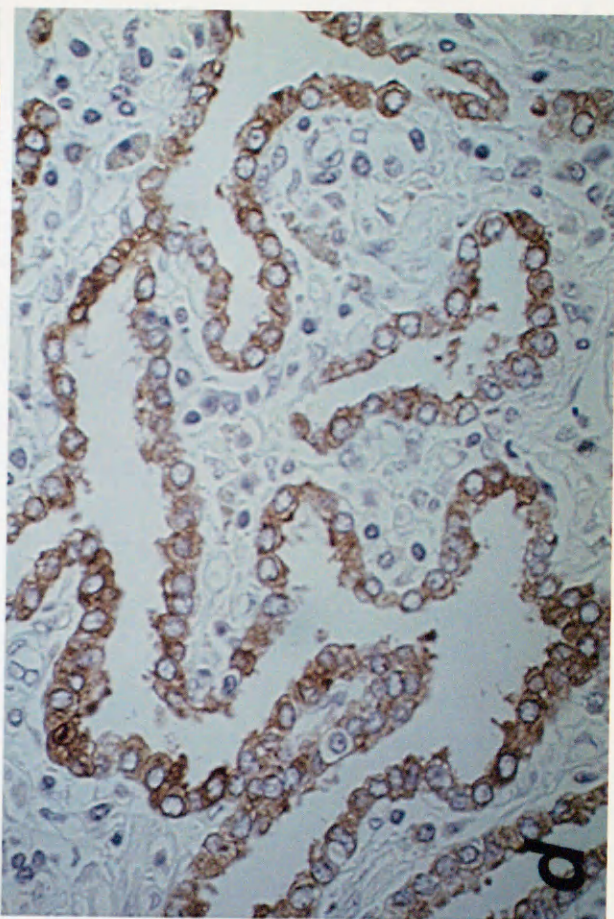
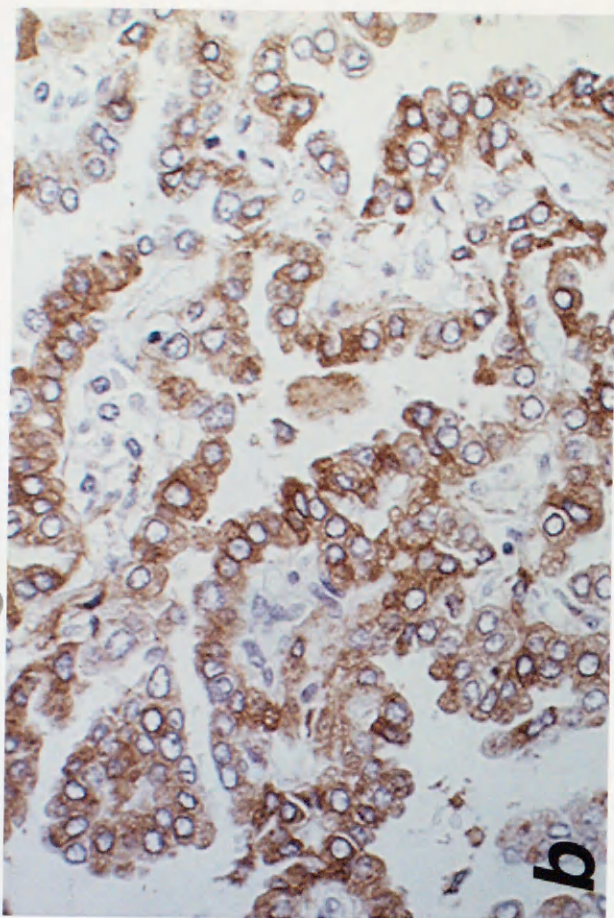


图 5





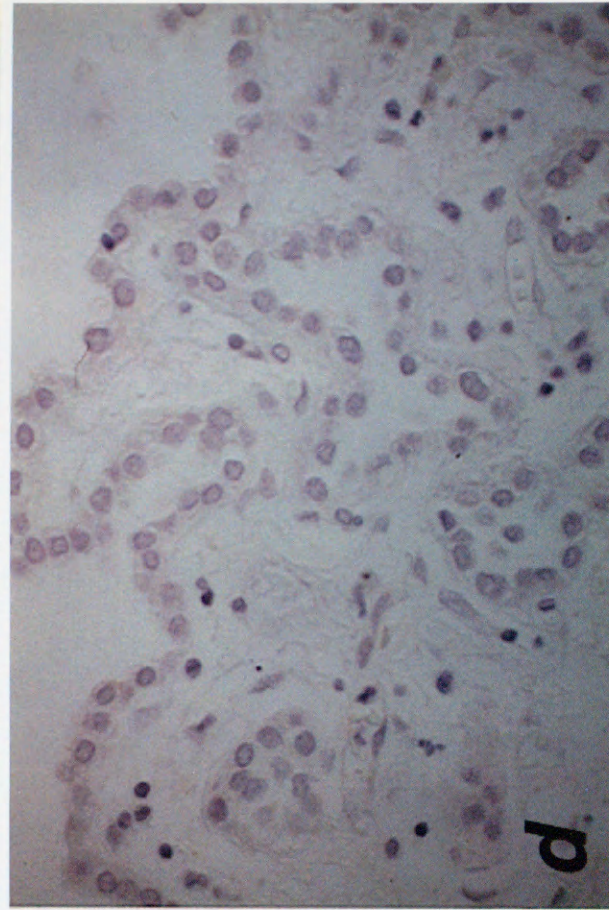
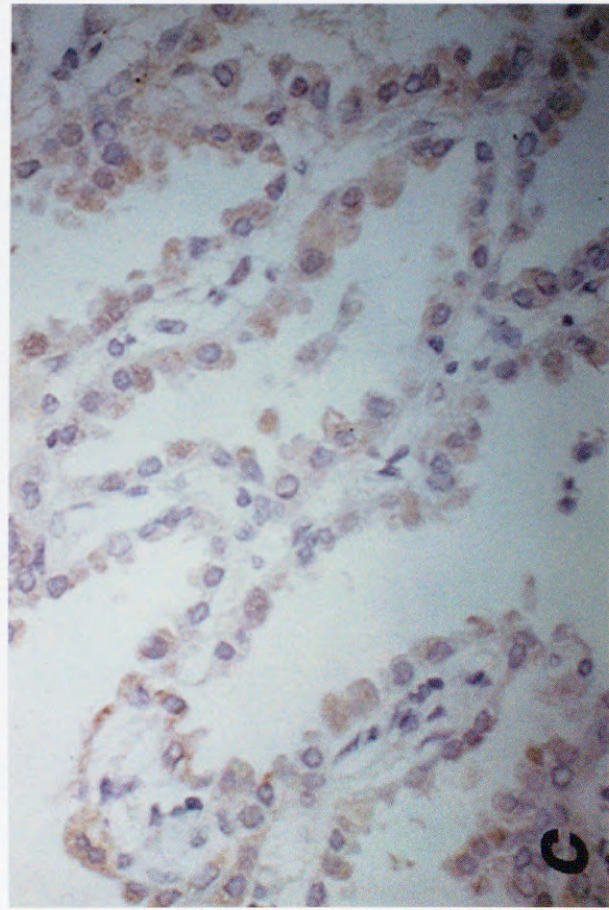
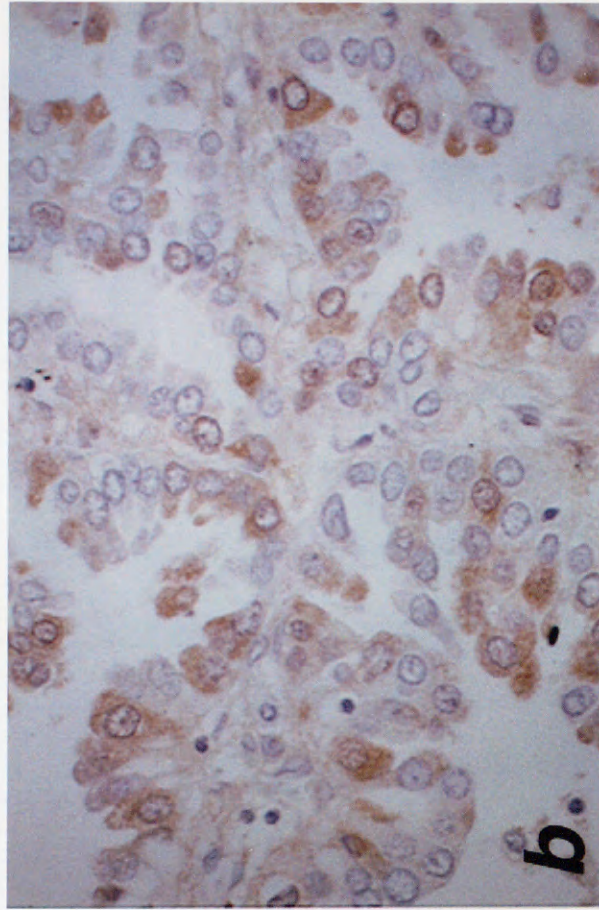
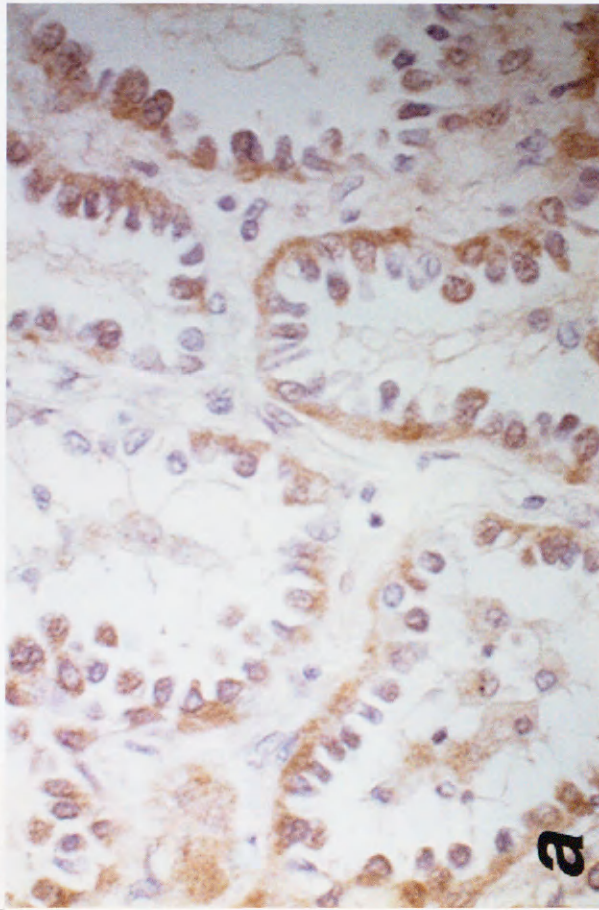


图 8

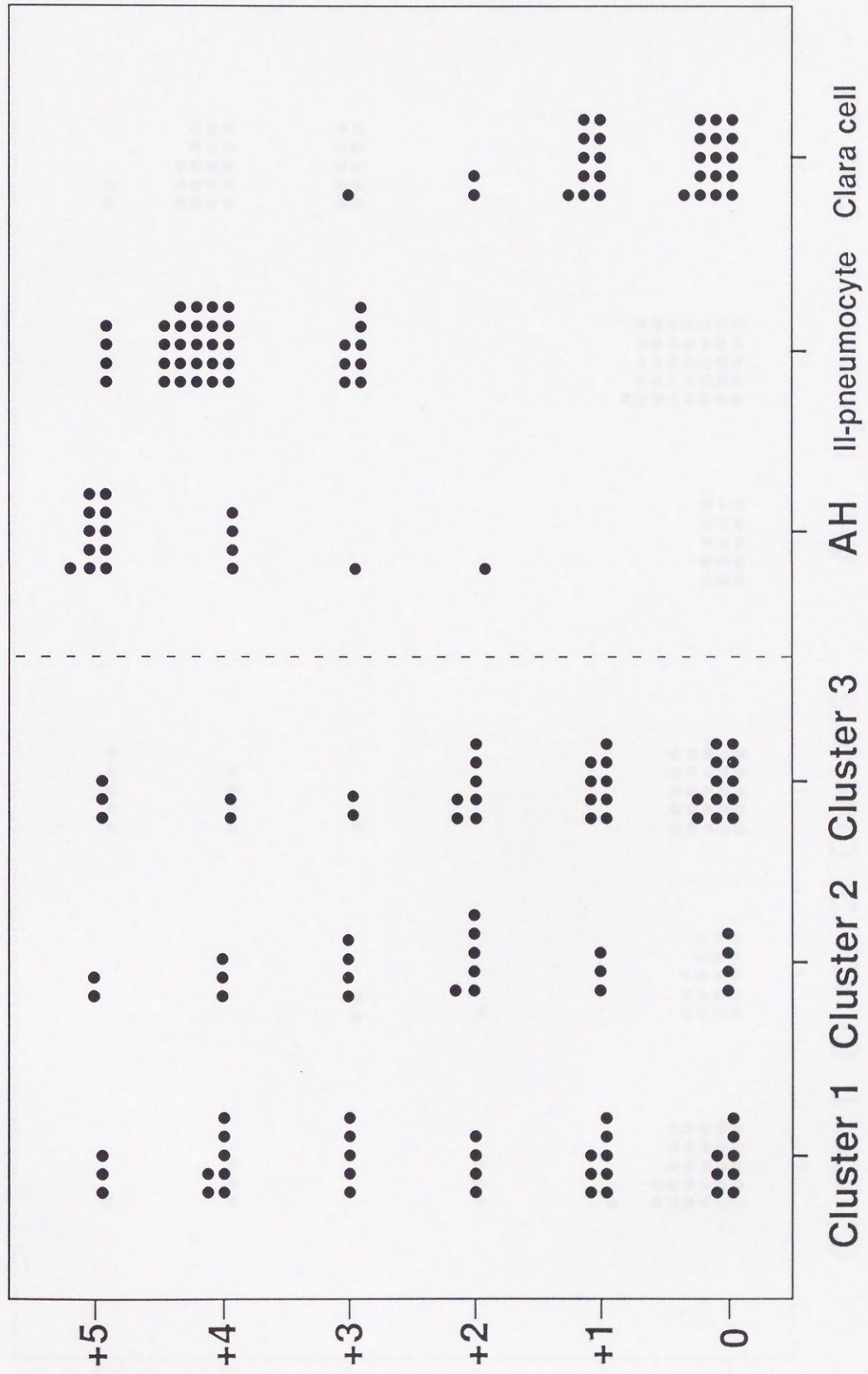
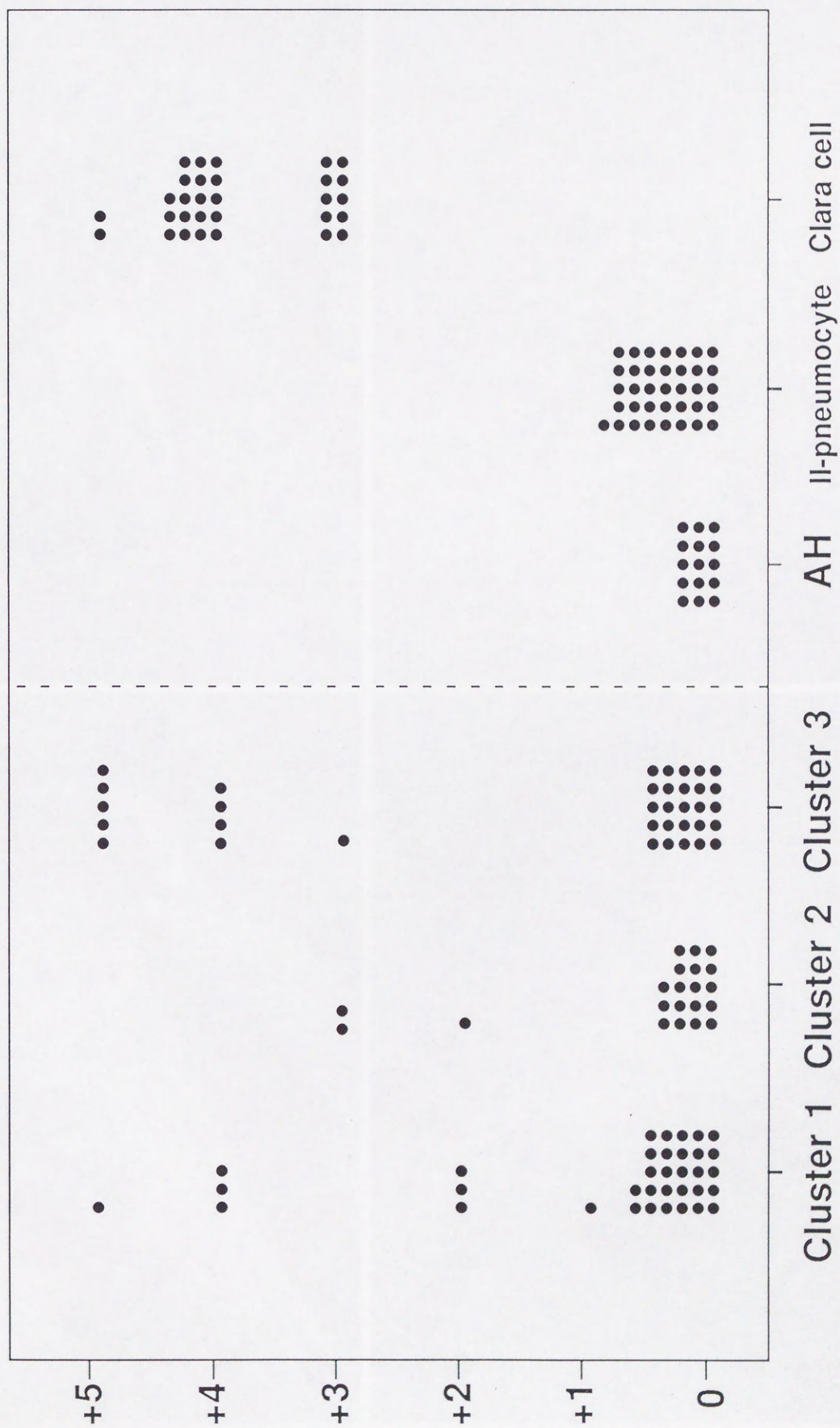


图 9



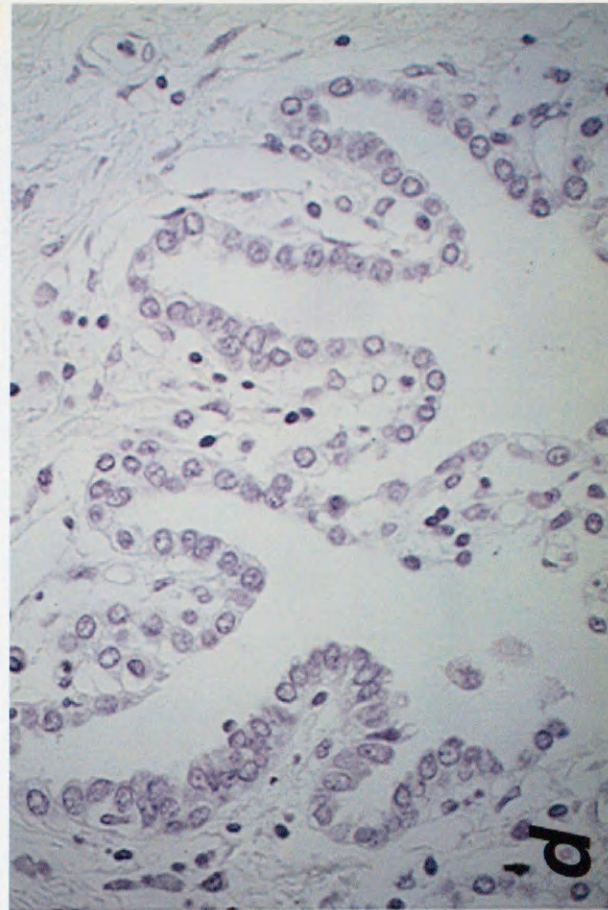
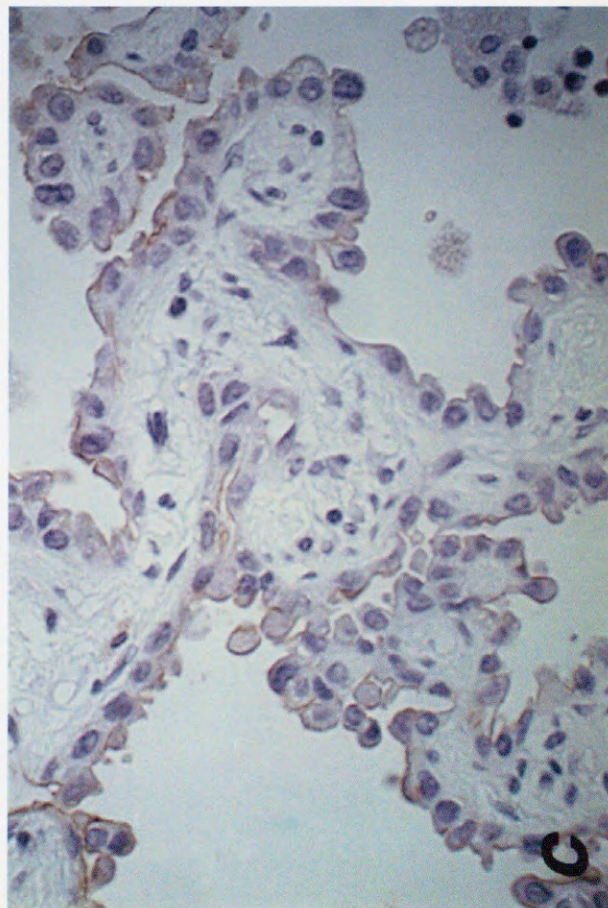
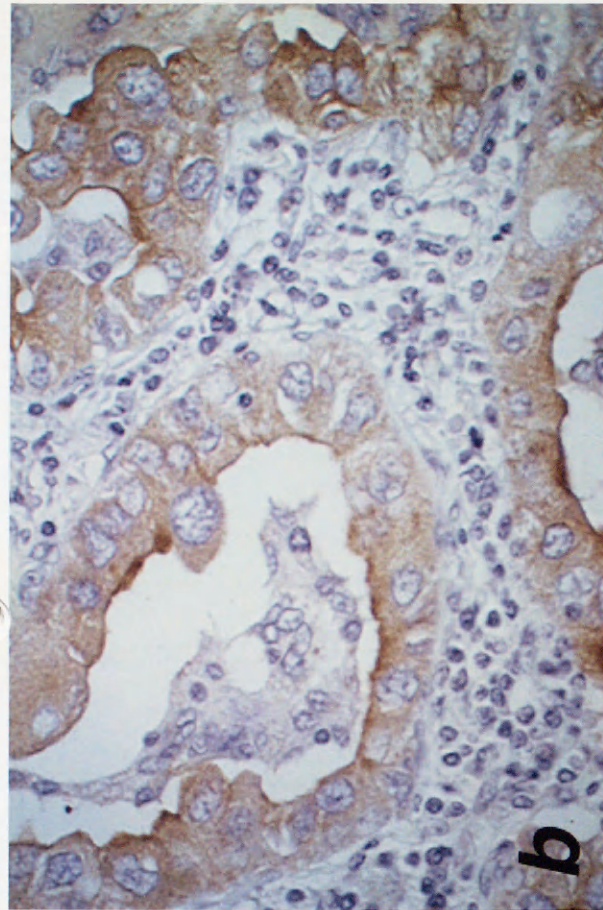
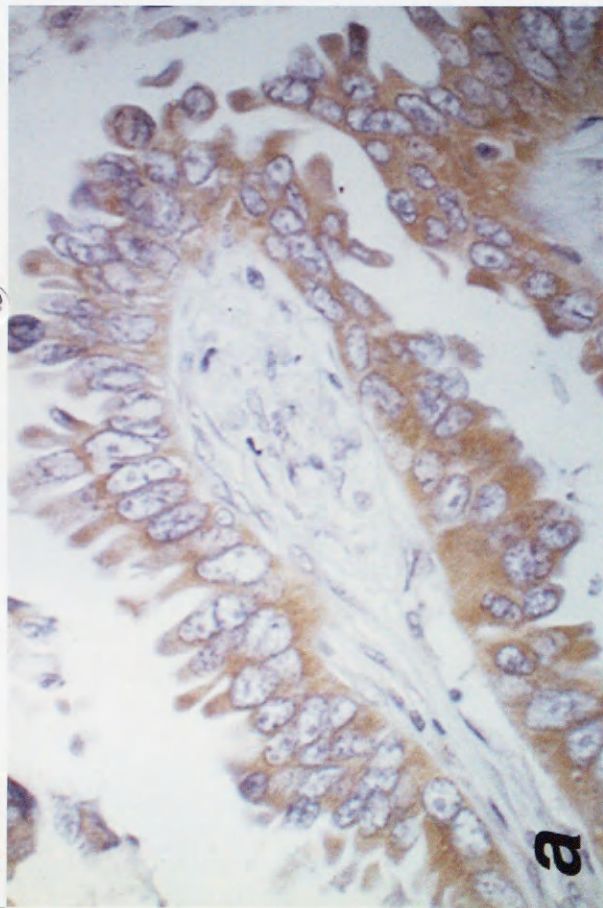
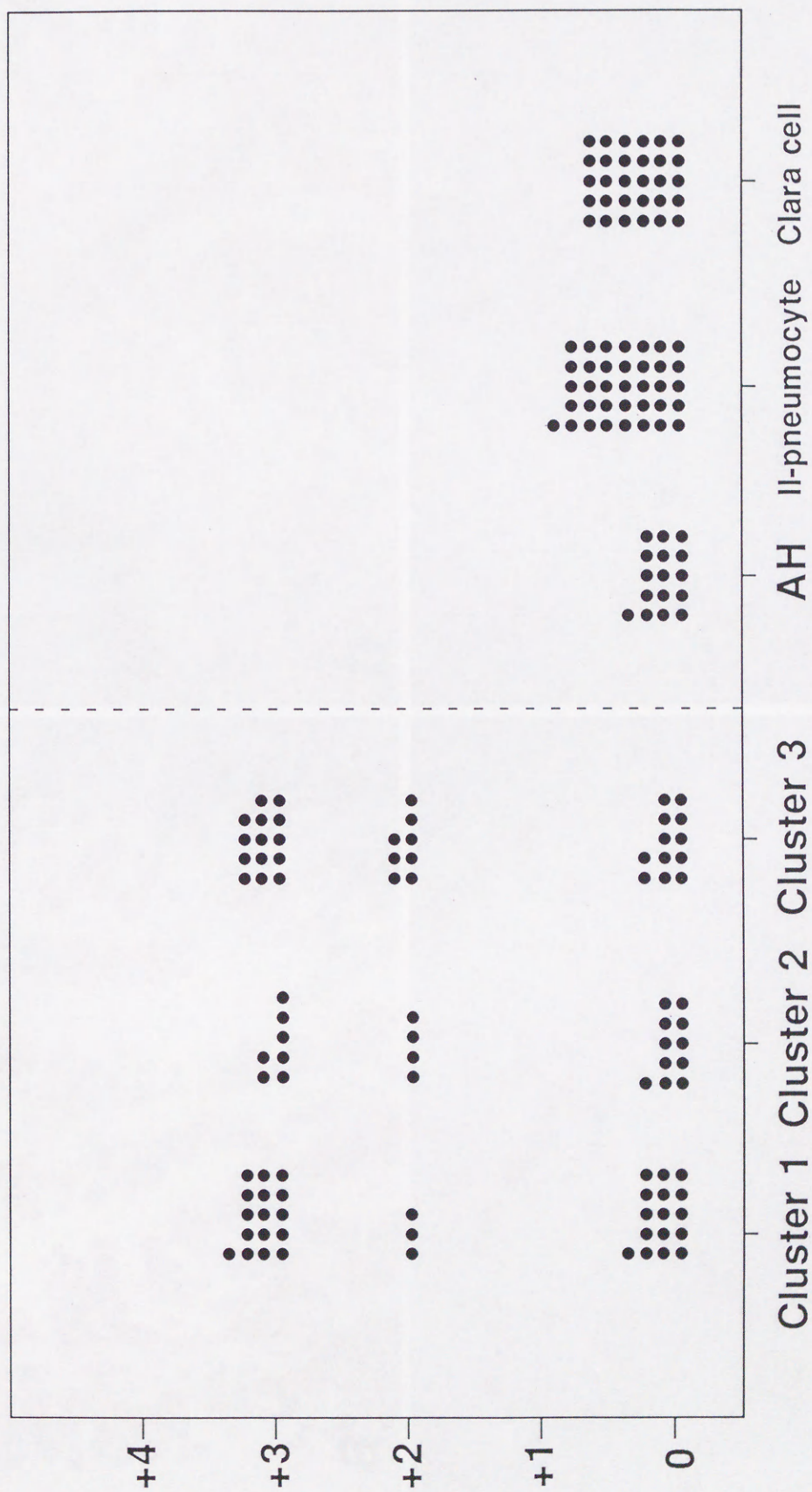
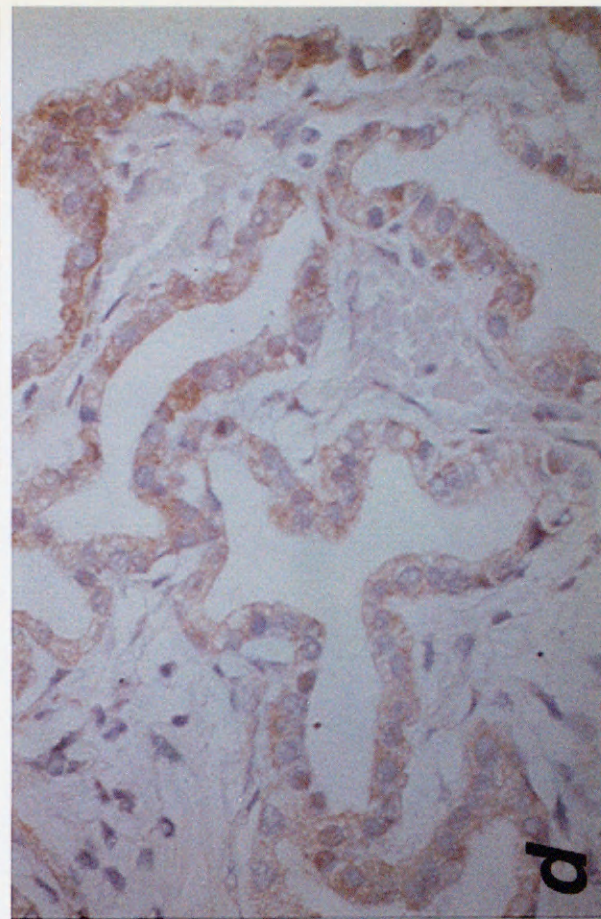
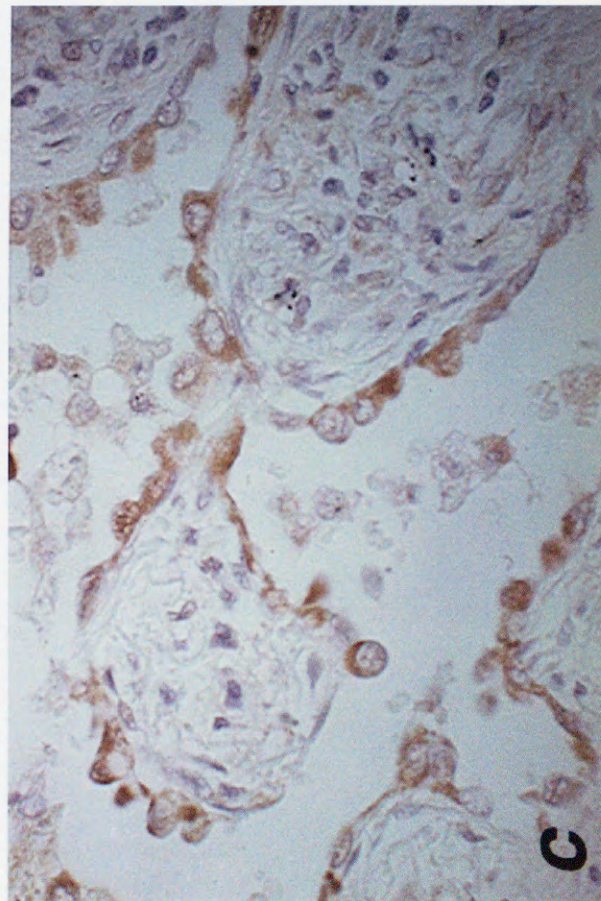
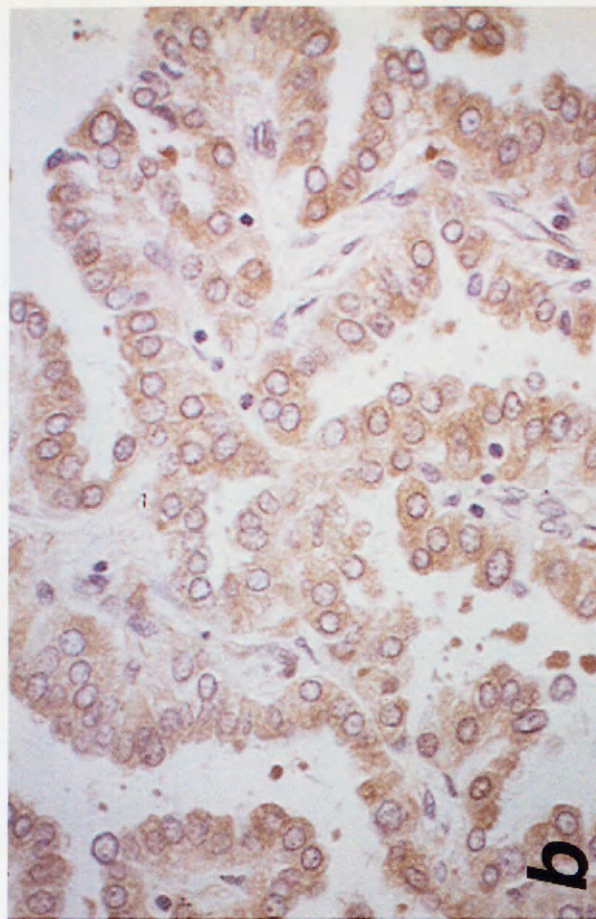
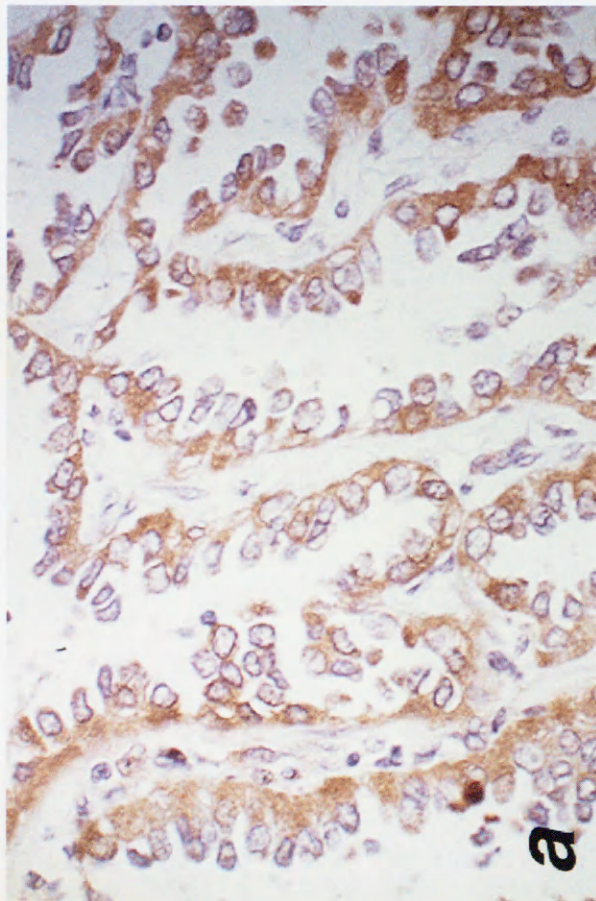
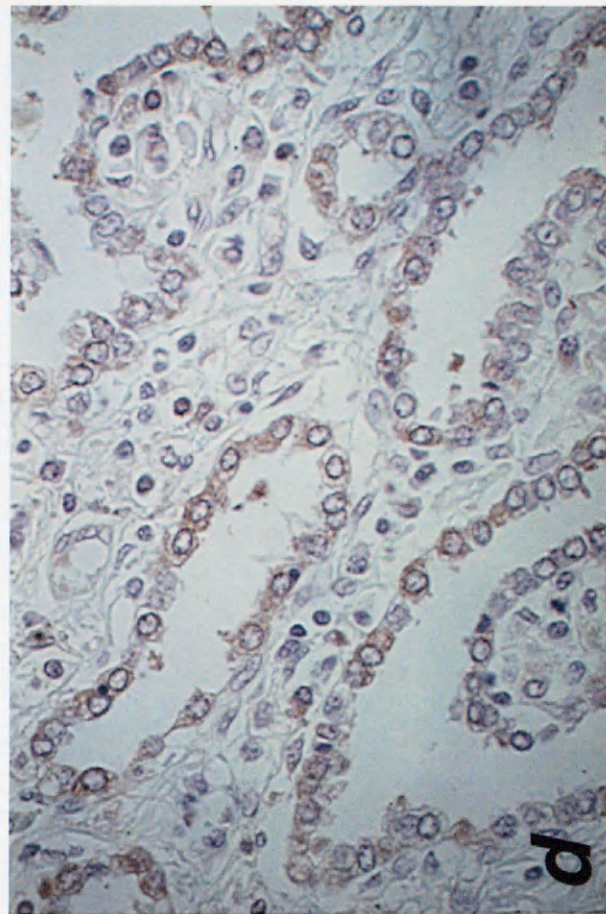
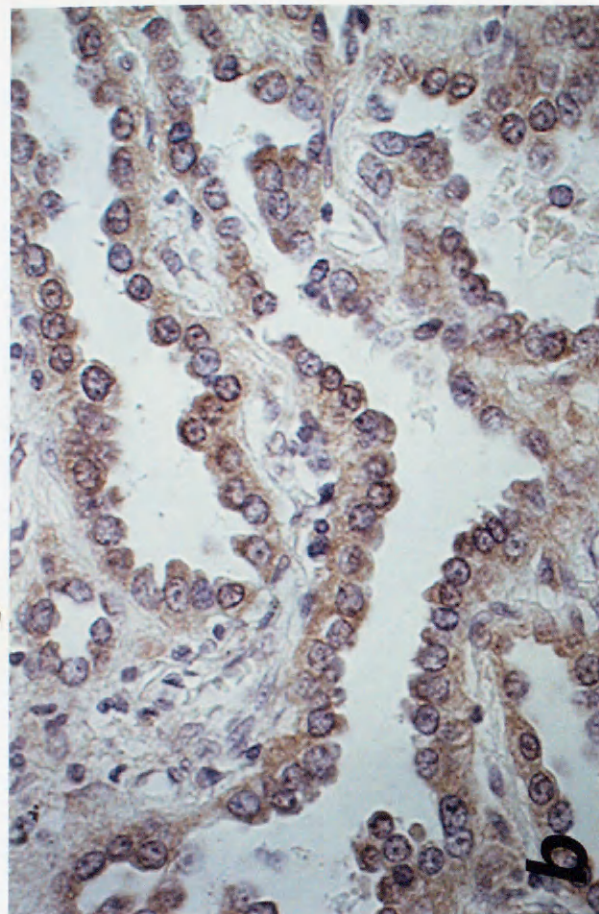
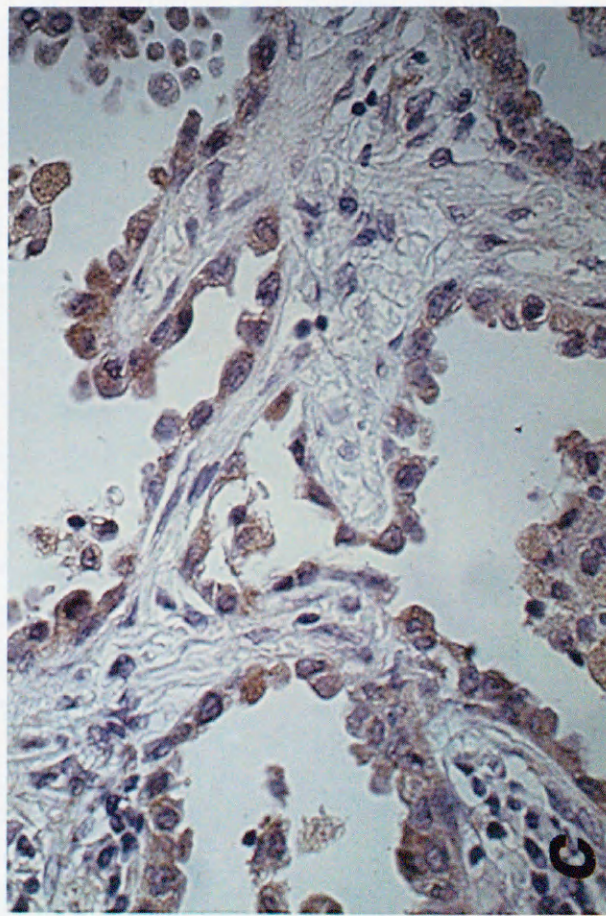
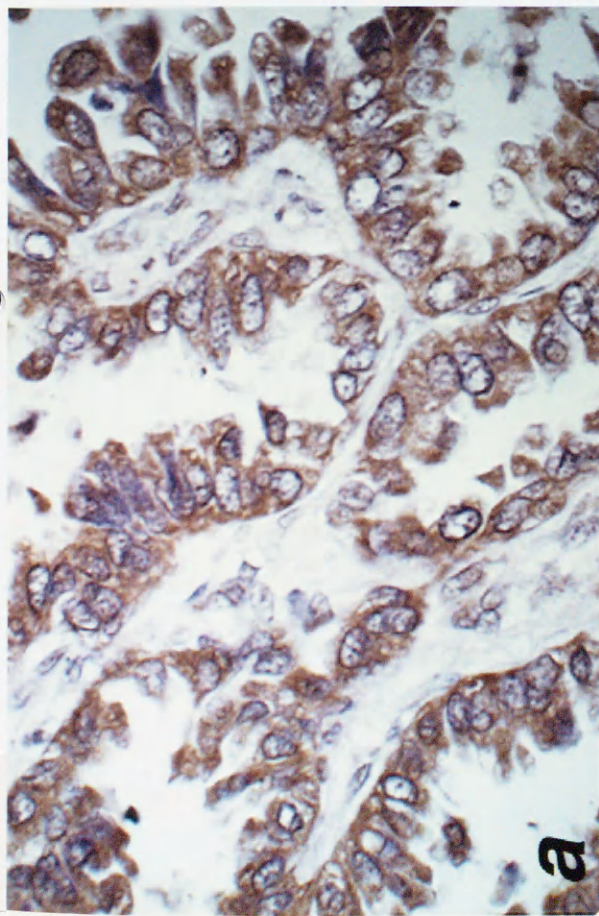


图 11







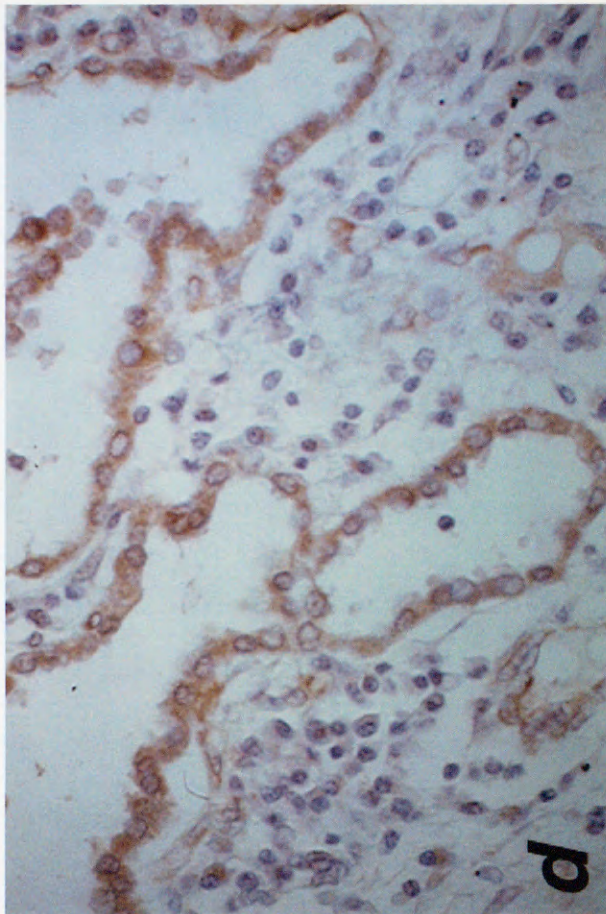
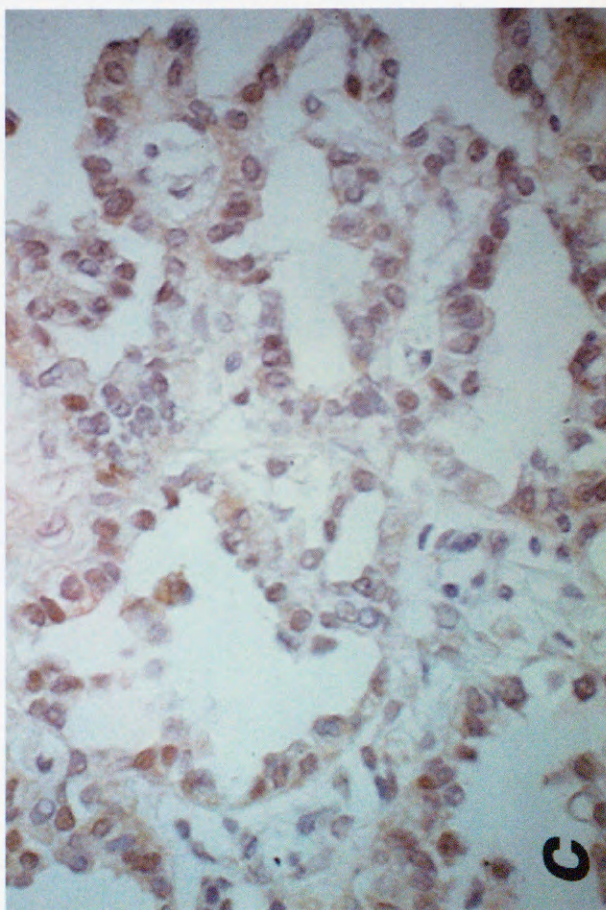
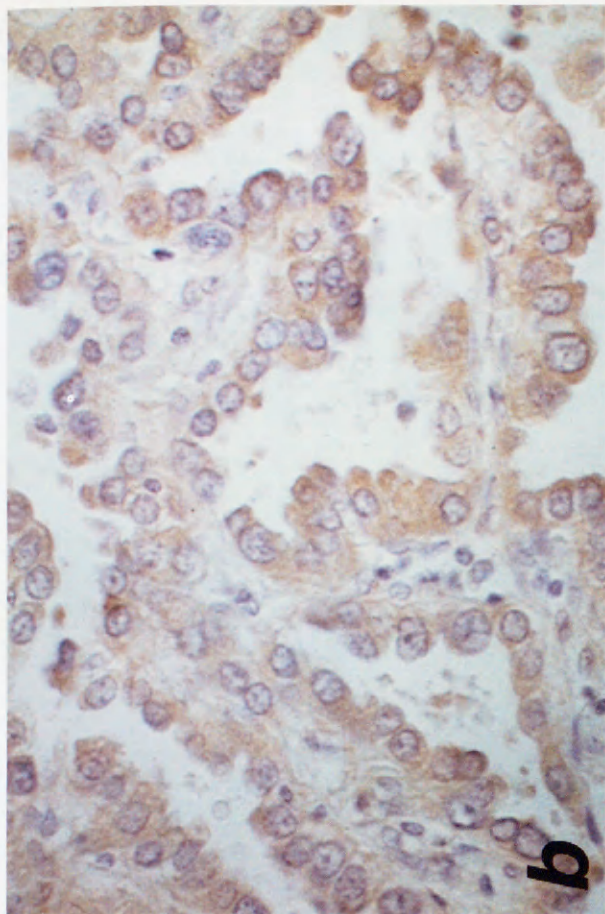
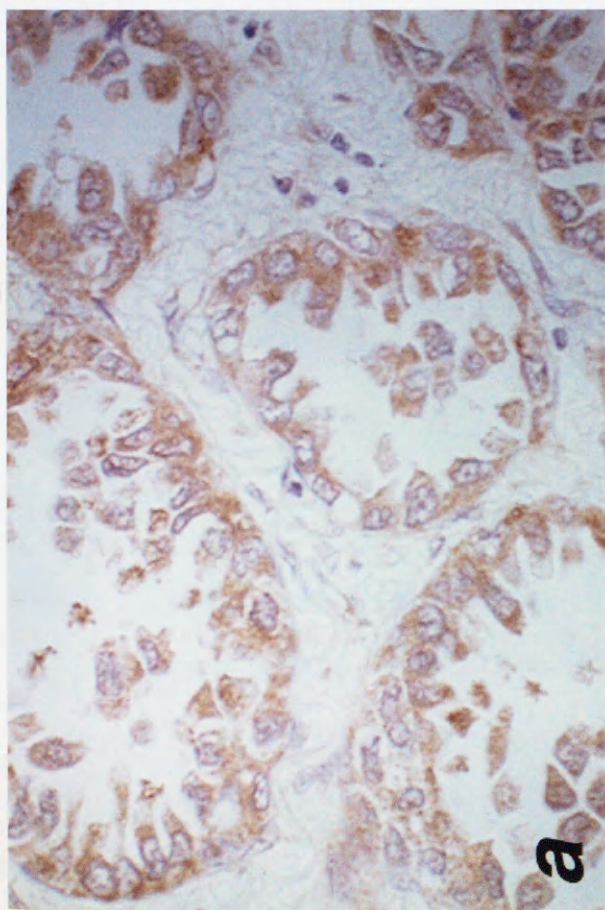
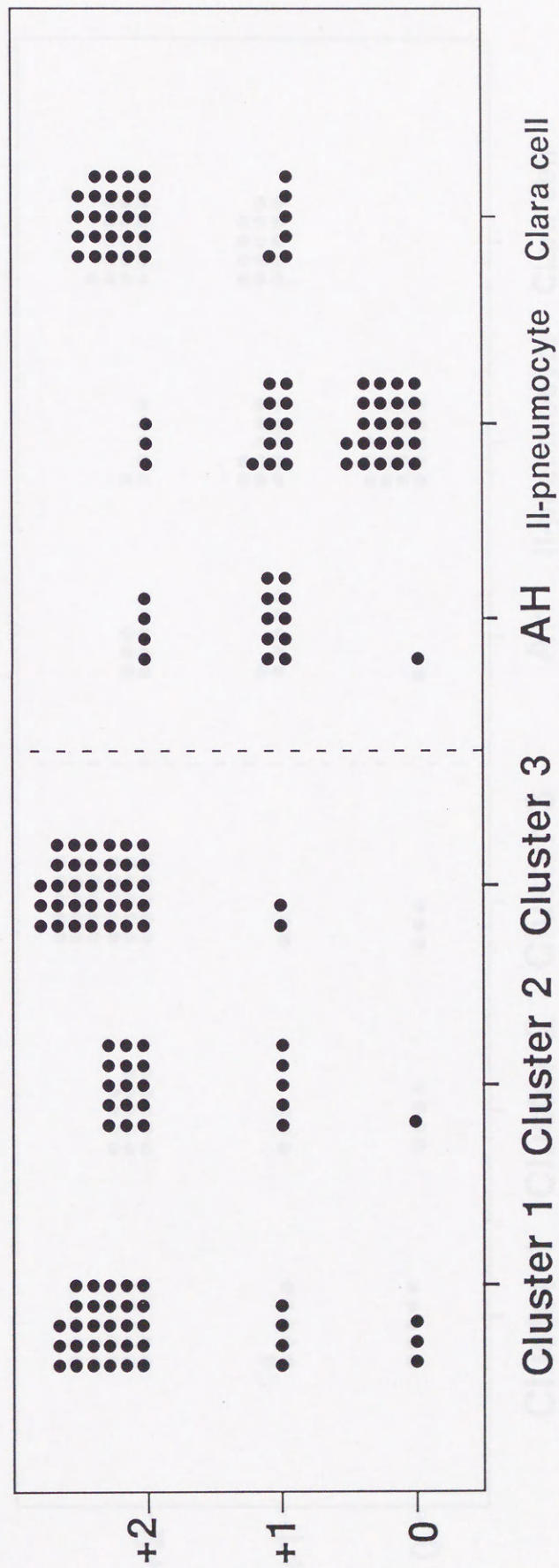


图 15



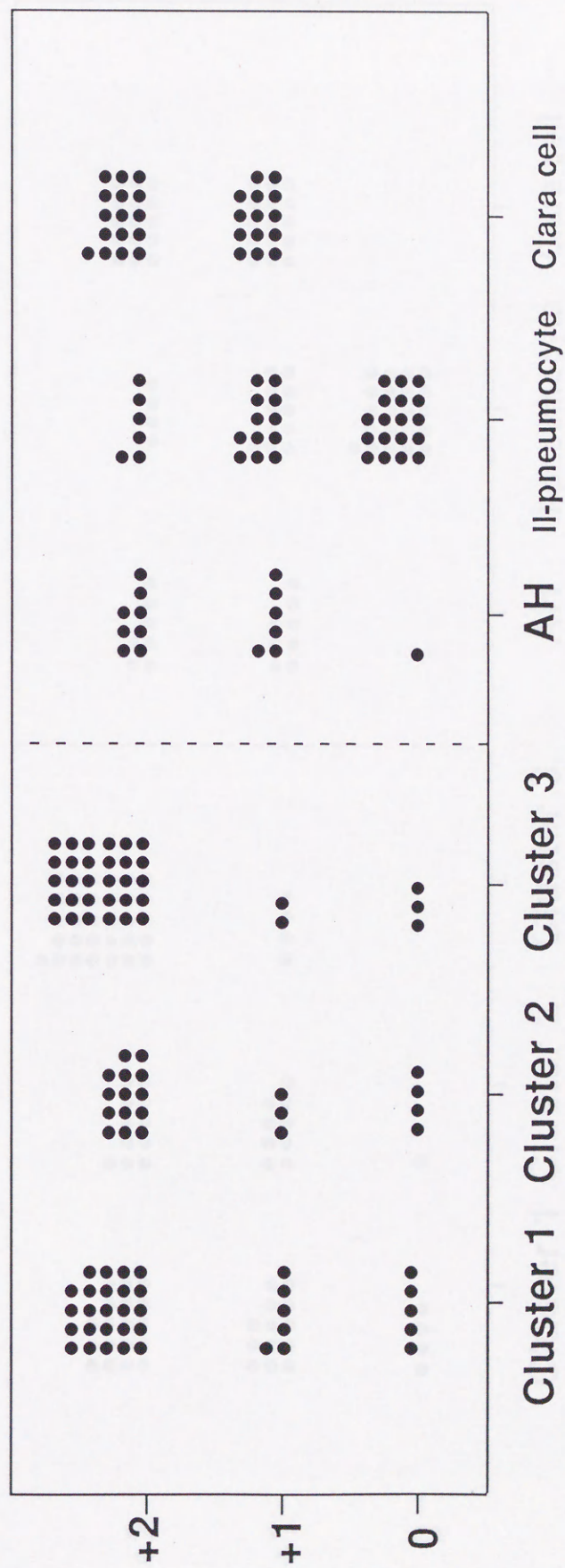
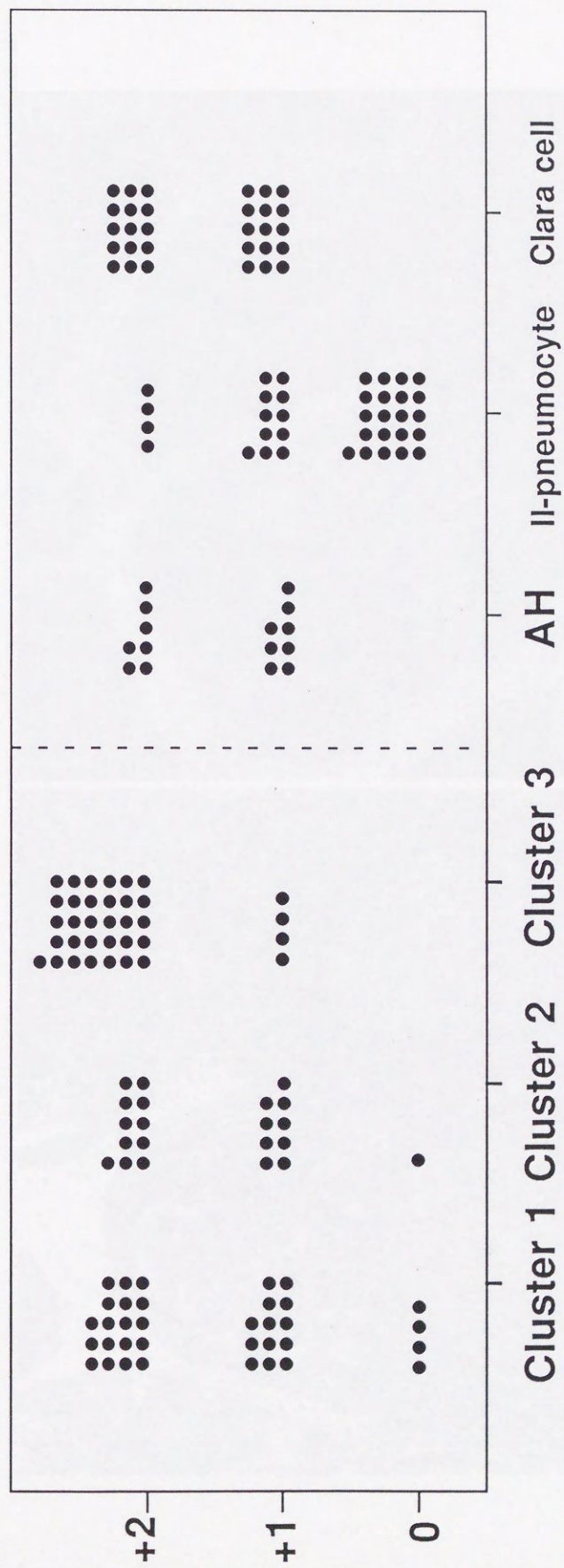


图 17



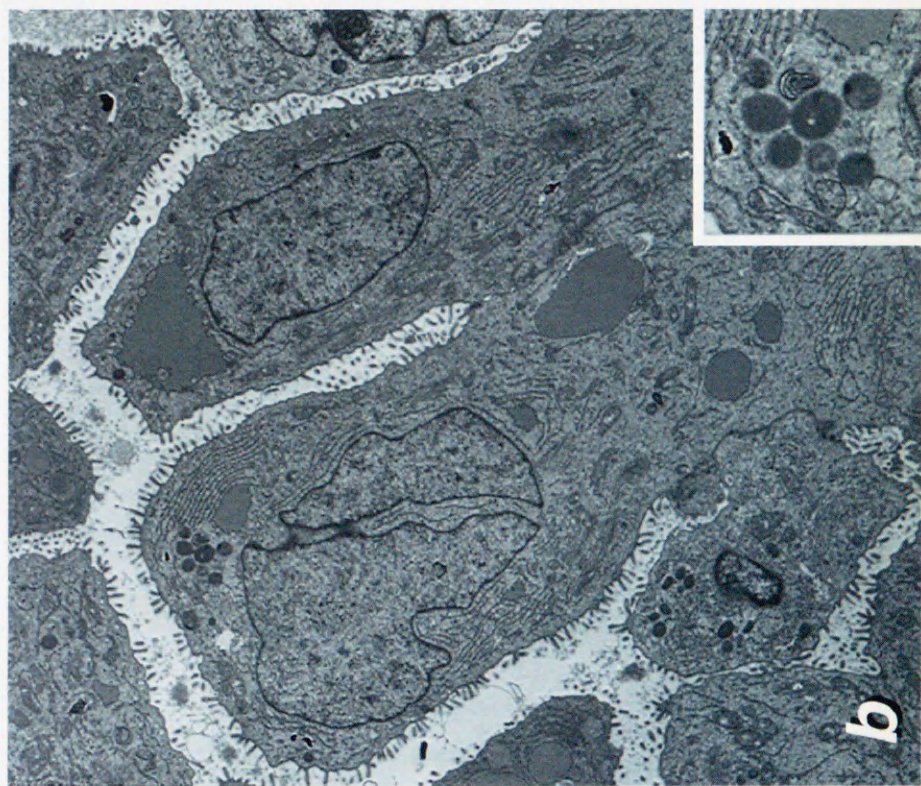
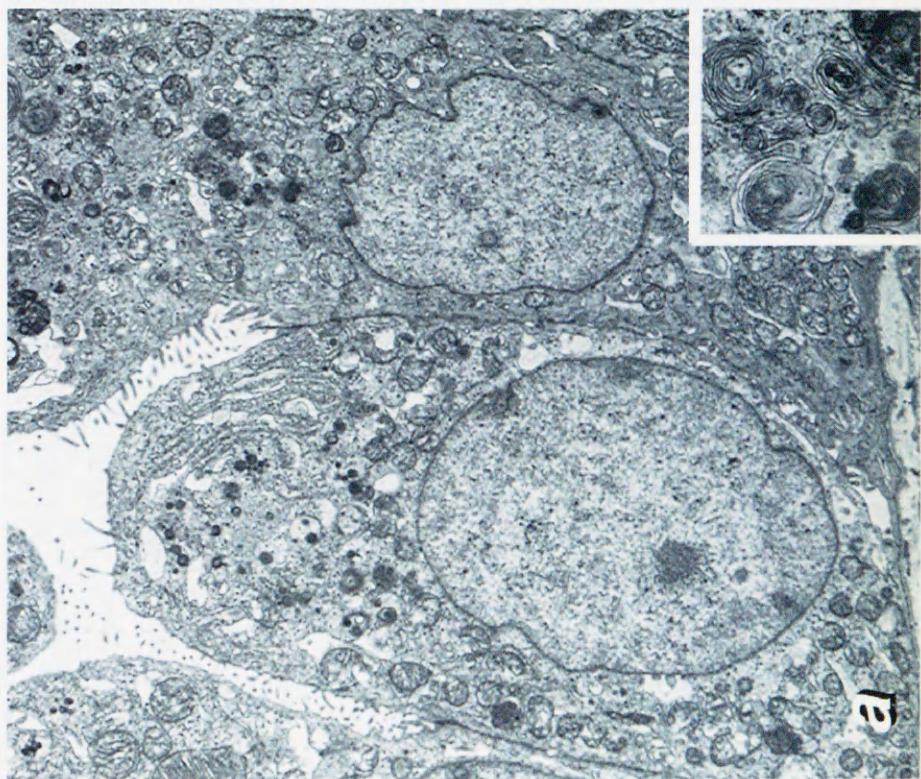




图 19

表 1

	核断面積		核形状係数		細胞断面積	核の基底配置性		細胞の丈の高さ		核の高さ		細胞自由縁の褶曲度	
	平均 S_n (μm^2)	分散 $V(S_n)$	平均 Q_n	分散 $V(Q_n)$	平均 Sc (μm^2)	平均 P_n	分散 $V(P_n)$	平均 Hc (μm)	分散 $V(Hc)$	平均 Hn (μm)	分散 $V(Hn)$	平均 Cp	
Cluster 1	35.9	117.3	0.82	0.0053	90.3	0.50	0.0063	11.2	7.95	6.67	2.37	1.51	
Cluster 2	23.7	71.0	0.76	0.0104	67.4	0.49	0.0072	8.9	6.37	5.22	1.71	1.50	
Cluster 3	48.7	329.3	0.77	0.0096	147.3	0.48	0.0129	19.9	39.82	9.35	5.50	3.52	

表 2

	病变数	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	再判別 症例数	再判別率 (%)
Cluster 1	35	32	3	0	32	91.4
Cluster 2	26	4	22	0	22	84.6
Cluster 3	36	2	0	34	34	94.4

表 3

Grade	陽性率 (%)
0	0
+1	0 ~ 25
+2	25 ~ 50
+3	50 ~ 75
+4	75 ~ 100
+5	100

表 4

Grade	免疫染色様式
0	全く染色されない
+1	管腔側細胞膜表面のみ陽性
+2	細胞質核上部が陽性
+3	細胞質全体が陽性
+4	腫瘍腺管周囲の間質も陽性

表 5

Grade	免疫染色様式
0	no staining
+1	positive staining only faintly observed
+2	positive staining



